

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS,
BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



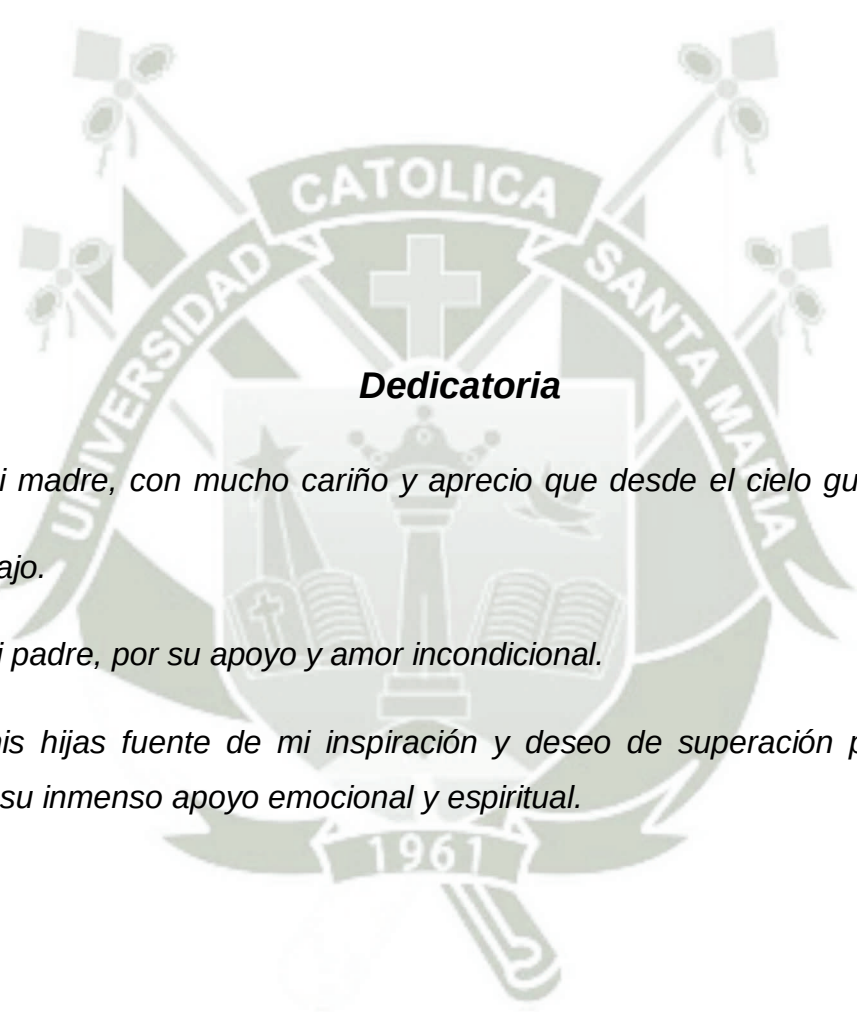
**“EFECTO DEL INCREMENTO AGUDO DE GLUCOSA (EXÓGENA)
SOBRE LA RESPUESTA VASCULAR DE ANILLOS AISLADOS DE
AORTA TORÁCICA DE RATAS NORMOGLICÉMICAS”.**

Tesis presentada por la bachiller:
RIOS CARBAJAL, JACQUELINE VICTORIA
Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Asesor:
Dra. ROXANA GUTIERREZ ARANIBAR

AREQUIPA - PERÚ

2015

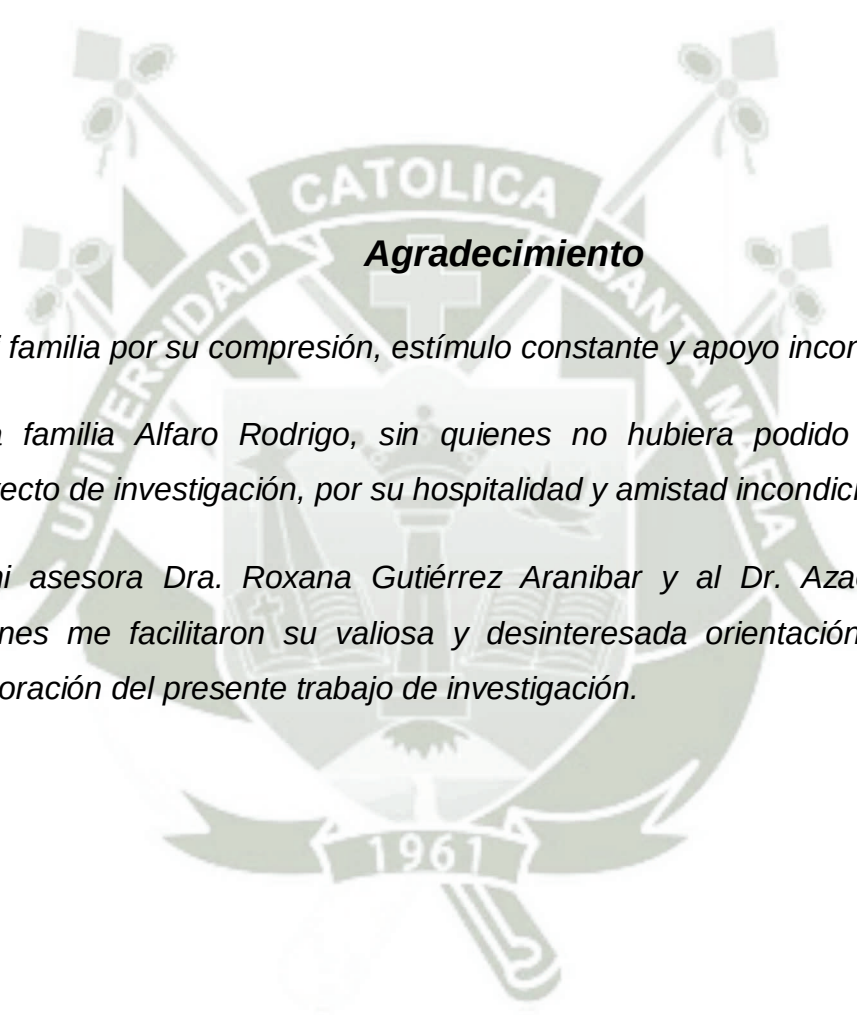


Dedicatoria

A mi madre, con mucho cariño y aprecio que desde el cielo guía este trabajo.

A mi padre, por su apoyo y amor incondicional.

A mis hijas fuente de mi inspiración y deseo de superación personal, por su inmenso apoyo emocional y espiritual.



Agradecimiento

A mi familia por su comprensión, estímulo constante y apoyo incondicional.

A la familia Alfaro Rodrigo, sin quienes no hubiera podido culminar este proyecto de investigación, por su hospitalidad y amistad incondicional.

A mi asesora Dra. Roxana Gutiérrez Aranibar y al Dr. Azael Paz Aliaga, quienes me facilitaron su valiosa y desinteresada orientación y guía en la elaboración del presente trabajo de investigación.



Reconocimiento

A mis jurados Dra. Yenny López Valencia, Dra. Jesús Zambrano Salas y al Químico Farmacéutico Fernando Torres Vela así como a la *Universidad Católica de Santa María* que me apoyaron y por darme la oportunidad de desarrollar mis capacidades y competencias para poder obtener el título profesional de Químico Farmacéutico.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Dedicatoria	2
Agradecimiento	3
Reconocimiento	4
Resumen	13
Summary	17
Introducción	20
Objetivos	22
Hipótesis	23
CAPITULO I	24
1. Marco Teórico	25
1.1. Antecedentes Teóricos	25
1.2. Antecedentes Históricos	25
1.3. Diabetes Mellitus	33
1.3.1. Causas de la Diabetes	34
1.3.2. Factores de riesgo	36
1.3.3. Tipos de diabetes	36
1.3.3.1. Diabetes tipo 1	36
1.3.3.2. Diabetes tipo 2	39
1.3.3.3. Diabetes gestacional	43
1.3.4. Niveles normales de glucosa	46
1.3.5. Niveles óptimos de glucosa en pacientes pre diabéticos	46
1.3.6. Niveles óptimos de glucosa en pacientes diabéticos	46
1.4. La Insulina	47
1.4.1. Síntesis de la insulina	49
1.4.2. Funciones de la insulina	50
1.4.2.1. Ayuda al ingreso de la glucosa a las células del cuerpo	50
1.4.2.2. Ayuda a la formación de músculos	51

1.4.2.3.	Función reguladora sobre el metabolismo	51
1.5.	El endotelio vascular	55
1.5.1.	Introducción	55
1.5.2.	Fisiología del endotelio	57
1.5.3.	La células endotelial	58
1.5.4.	Características de las células endoteliales	58
1.5.5.	Funciones del endotelio	59
1.5.6.	Sustancias producidas por el endotelio	60
1.5.6.1.	Sustancias vasodilatadoras	60
1.5.6.2.	Sustancias vasoconstrictoras	60
1.5.7.	Principales sustancias vasodilatadoras del endotelio	61
1.5.7.1.	Óxido nítrico	61
1.5.7.1.1.	Descripción del óxido nítrico	62
1.5.7.1.2.	Funciones del óxido nítrico	62
1.5.7.1.3.	Isoformas del óxido nítrico	63
1.5.7.1.4.	Síntesis del óxido nítrico	64
1.5.7.1.5.	Sustancias dependientes del óxido nítrico	65
1.5.7.2.	Prostaciclina	66
1.5.8.	Principales sustancias vasoconstrictoras del endotelio	66
1.5.8.1.	Endotelina	67
1.5.8.1.1.	Tipos de endotelina	67
1.5.8.1.2.	Efectos de la endotelina sobre los vasos sanguíneos	67
1.6.	Disfunción endotelial	68
1.6.1.	Mecanismo de producción de la disfunción endotelial	68
1.6.2.	Naturaleza de la disfunción endotelial	70
1.6.3.	Diagnóstico de la disfunción endotelial	71
1.7.	Estrés oxidativo	71
1.7.1.	Mecanismo de producción del estrés oxidativo	72
1.7.2.	Estrés oxidativo y diabetes mellitus	73
1.8.	Radicales libres	73
1.8.1.	Introducción	73

1.8.2.	El oxígeno y los radicales libres	74
1.8.3.	Definición de radicales libres	76
1.8.4.	Acción de los radicales libres en el organismo	77
1.8.5.	Principales fuentes de radicales libres	78
1.8.5.1.	Respiración pulmonar	78
1.8.5.2.	Respiración mitocondrial	78
1.8.5.3.	Peroxisomas	81
1.8.5.4.	Leucocitos polimorfonucleares	81
1.8.5.5.	Endotelio	83
1.8.6.	Otras formas de producción de radicales libres	83
1.8.6.1.	Por autooxidación	83
1.8.6.2.	Oxidación de hemoproteínas de transporte gaseoso	84
1.8.6.3.	Sistema citocromo P-450	84
1.8.6.4.	Radiaciones ultravioleta	85
1.8.7.	Especies reactivas de nitrógeno	86
1.8.8.	Especies reactivas de oxígeno	89
1.8.8.1.	Tipos de especies reactivas de oxígeno	90
1.8.8.2.	Efectos que producen las especies reactivas de oxígeno	90
1.9.	Antioxidantes	91
1.9.1.	Papel de los antioxidantes	91
1.9.2.	Tipos de antioxidantes	91
1.9.2.1.	Antioxidantes exógenos	91
1.9.2.2.	Antioxidantes endógenos propiamente dicho	99
1.9.2.3.	Enzimas antioxidantes	100
1.9.3.	Balance entre radicales libres y antioxidantes	101
	CAPÍTULO II MATERIALES Y MÉTODOS	102
2.	Materiales y métodos	103
2.1.	Metodología de la investigación	103
2.1.1.	Tipo de investigación	103
2.1.2.	Nivel de investigación	103
2.1.3.	Diseño de investigación	103

2.1.4.	Campo de investigación	103
2.1.5.	Población	103
2.1.6.	Unidades de estudio	104
2.2.	Materiales	104
2.2.1.	Instrumentos de laboratorio	104
2.2.2.	Reactivos y drogas utilizadas	105
2.3.	Diseño experimental	106
2.3.1.	Etapa pre experimental	106
2.3.2.	Etapa de estandarización	106
2.3.3.	Etapa experimental	106
2.3.3.1.	Obtención de los anillos aórticos	106
2.3.3.2.	Inserción de los anillos aislados en la cámara de órganos	107
2.3.4.	Protocolo de administración de fármacos	108
2.3.4.1.	Determinación del patrón vasoactivo de anillos de aorta torácica	108
2.3.4.2.	Respuesta vasoactiva de anillos frente a dosis creciente de ACh	109
2.3.4.3.	Respuesta vasoactivo del endotelio frente a L-arginina	110
2.3.4.4.	Determinación de la producción de radicales libres	111
2.3.4.5.	Efecto del Alopurinol sobre los anillos de aorta torácica	112
2.3.5.	Estrategia de recolección de datos	112
2.3.6.	Diseño estadístico	112
	CAPÍTULO III RESUTADOS Y DISCUSIONES	114
3.	Resultados y discusiones	115
3.1.	Determinación del patrón vasoactivo máximo de los anillos de aorta torácica	115
3.2.	Respuesta vasoactiva de los anillos aislados a dosis creciente de ACh	117
3.3.	Respuesta vasoactiva del endotelio dependiente frente a la L-arginina	119
3.4.	Determinación del efecto del incremento de radicales libres sobre la vasoconstricción de anillos aórticos y respuesta frente al Alopurinol	121

DISCUSIÓN	125
CAPITULO IV	127
CONCLUSIONES	128
APORTES	130
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	131
ANEXOS	141

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Ganadores del Premio Nobel Medicina 1923.	33
Figura 2 Acción de la Insulina frente al incremento de la Glucosa.	35
Figura 3 Causa de la elevación de los niveles de glucosa en sangre.	35
Figura 4 Acción del páncreas en estado normal y en Diabetes.	36
Figura 5 Síntomas de la Diabetes Mellitus tipo 1.	38
Figura 6 Diagrama de la Diabetes Mellitus tipo 1.	39
Figura 7 Acción de la Glucosa en la Diabetes tipo 2.	40
Figura 8 Niveles de Glucosa en sangre "Normal y Diabetes tipo 2".	40
Figura 9 Cambios que se producen en estado normal y alterado.	46
Figura 10 Acople de la Insulina a sus Receptores.	47
Figura 11 La Insulina como llave de ingreso al interior de las células.	48
Figura 12 Mecanismo de acción de la Insulina.	48
Figura 13 Síntesis de Insulina en los Islotes de Langerhans.	49
Figura 14 Acción de la Insulina en la regulación de glucosa en sangre.	50
Figura 15 Ingreso de la Glucosa gracias a la Insulina.	51
Figura 16 Glucogénesis - Formación de Glucosa 6 Fosfato.	52
Figura 17 Glucogénesis - Formación de UDP-Glucosa.	52
Figura 18 Glucogénesis - Formación de Glucógeno.	52
Figura 19 Glucogenólisis.	53
Figura 20 Cuadro comparativo entre la Glucogénesis y Glucogenólisis.	54
Figura 21 Esquema de la Glucólisis.	55
Figura 22 Sustancias liberadas por el Endotelio en la Homeostásis Celular.	56

Figura 23 Historia y Evolución del estudio del Endotelio.	56
Figura 24 Fisiología del Endotelio corte transversal.	58
Figura 25 Características de la célula endotelial.	59
Figura 26 Funciones de las células Endoteliales.	60
Figura 27 Estímulos y receptores específicos que promueven la síntesis de Óxido Nítrico.	64
Figura 28 Formación de Óxido Nítrico.	65
Figura 29 Acción del Óxido Nítrico sobre el músculo liso vascular.	65
Figura 30 Acción de las Prostaglandinas.	66
Figura 31 Diagrama de formación de Radicales Libres.	76
Figura 32 Estructura de los Radicales Libres.	76
Figura 33 La respiración pulmonar como fuente de Radicales Libres.	78
Figura 34 Reacciones de formación de Especies Reactivas de Oxígeno.	79
Figura 35 Formación de especies reactivas de oxígeno.	79
Figura 36 Producción de radical hidroxilo por acción de la catalasa	79
Figura 37 Producción de radical hidroxilo a través de la cadena mitocondrial	80
Figura 38 Producción de radicales libres por acción de NADPH.	82
Figura 39 Degradación de las Purinas.	83
Figura 40 Oxidación del Hierro con liberación del radical superóxido.	84
Figura 41 Formación del Radical Hidroxilo por rayos ultravioleta.	86
Figura 42 Formación de Óxido Nítrico a partir de la L-arginina.	87
Figura 43 Formación de Peroxinitritos a partir de Óxido Nítrico y Radical Superóxido.	88
Figura 44 Clasificación de los Antioxidantes Endógenos.	92
Figura 45 Alimentos ricos en Carotenos.	93
Figura 46 Alimentos ricos en Vitamina C.	93
Figura 47 Alimentos ricos en Vitamina A.	94
Figura 48 Alimentos ricos en Vitamina E.	94
Figura 49 Alimentos ricos en minerales.	95
Figura 50 Alimentos ricos en Coenzima Q-10	96
Figura 51 Alimentos con alto contenido de Bioflavonoides.	96
Figura 52 Alimentos con alto contenido de Antocianinas.	97

Figura 53 Alimentos con alto contenido de Indoles y Tioles.	97
Figura 54 Alimentos con alto contenido de Catequinas.	98
Figura 55 Alimentos con alto contenido de Lignanós.	98
Figura 56 Alimentos ricos en Isoflavonas.	99

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 1 Patrón de vasoconstricción y vasodilatación máxima de anillos torácicos frente a la Noradrenalina y Acetilcolina.	115
Gráfico 2 Respuesta vasodilatadora de anillos torácicos frente a dosis crecientes de Acetilcolina.	117
Gráfico 3 Respuesta vasoactiva del Endotelio dependiente frente a la L-arginina	119
Gráfico 4 Efecto de la Xantina Oxidasa y el Alopurinol sobre anillos de aorta torácica	121

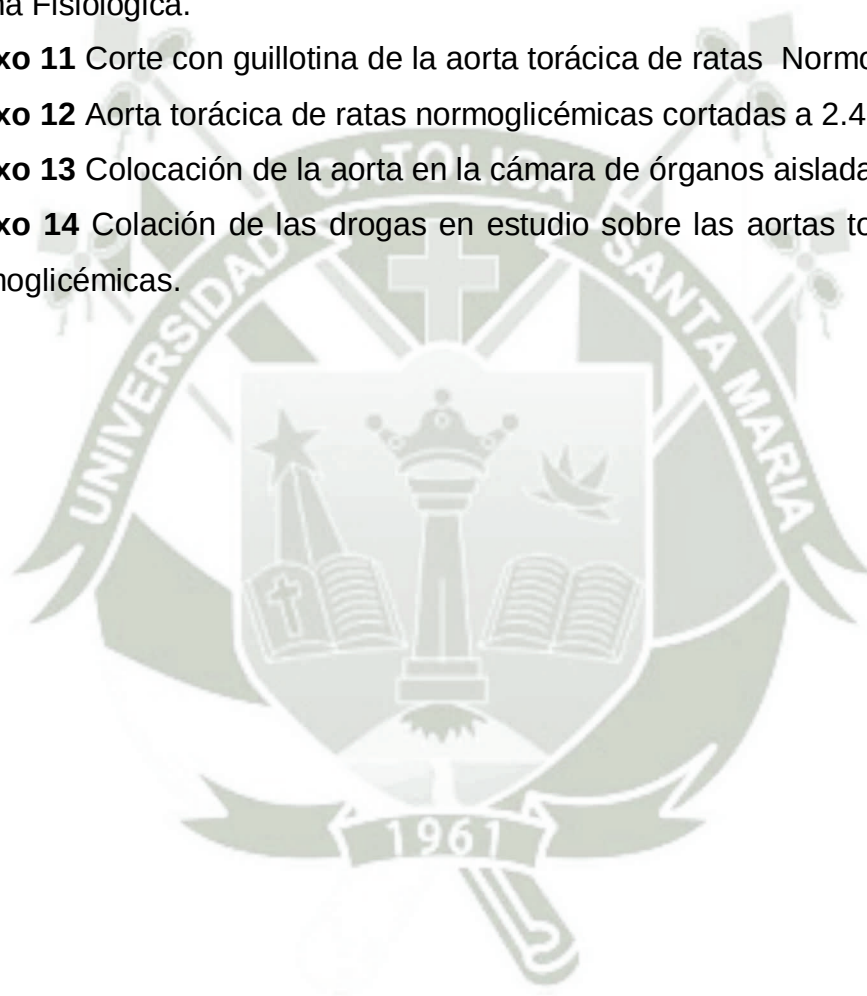
ÍNDICE DE TABLAS

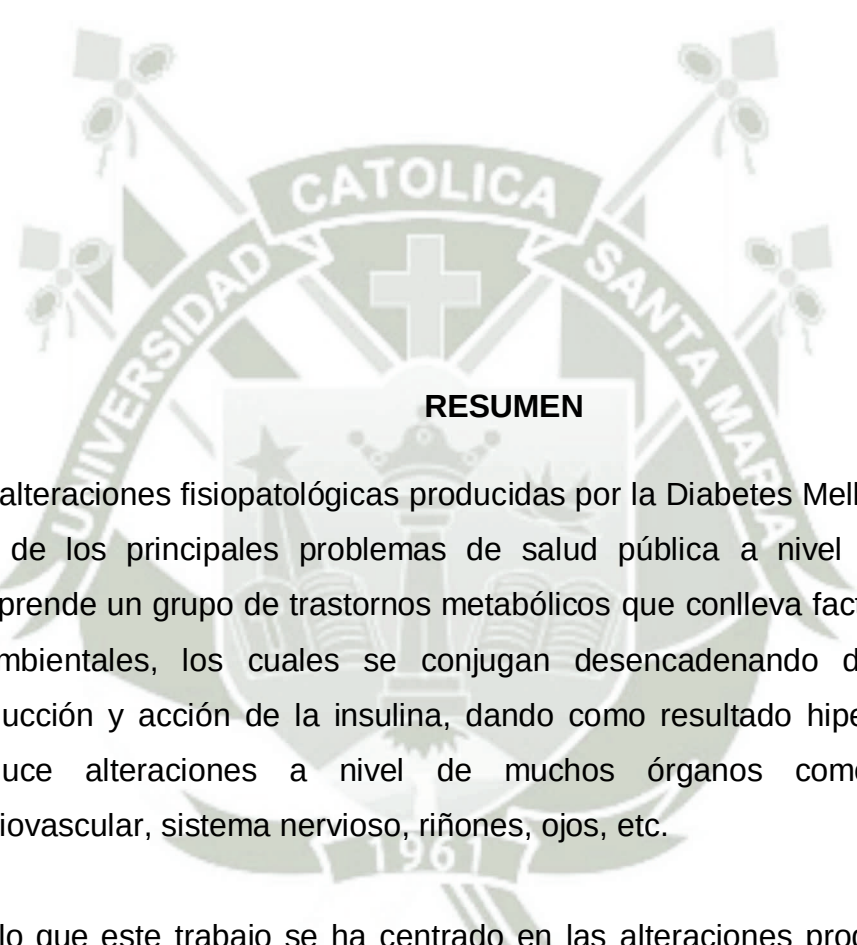
	Pág.
Tabla 1 Respuesta vasoactiva expresada en porcentaje de anillos torácicos frente a la Noradrenalina y Acetilcolina.	116
Tabla 2 Respuesta vasoactiva de anillos aórticos frente a dosis crecientes de Acetilcolina.	118
Tabla 3 Porcentaje de respuesta vasoactiva de los anillos torácicos frente a la L-arginina	120
Tabla 4 Reacción de porcentaje de los anillos torácicos frente a la Xantina Oxidasa y al Alopurinol.	122

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1 Guillotina vista lateral y frontal.	142
Anexo 2 Materiales de Disección: Pinzas de Disección.	143
Anexo 3 Materiales de Disección: Tijeras de Disección.	144

Anexo 4 Micropipetas.	145
Anexo 5 Equipo para mezcla de gases.	146
Anexo 6 Cámara de órganos.	147
Anexo 7 Tanque Regulador de Gases.	148
Anexo 8 Polígrafo de Grass.	149
Anexo 9 Estabilizador del Polígrafo de Grass.	150
Anexo 10 Aorta torácica de ratas normoglicémicas recién seccionadas Solución Salina Fisiológica.	151
Anexo 11 Corte con guillotina de la aorta torácica de ratas Normoglicémicas	152
Anexo 12 Aorta torácica de ratas normoglicémicas cortadas a 2.4 mm	153
Anexo 13 Colocación de la aorta en la cámara de órganos aislada.	154
Anexo 14 Colación de las drogas en estudio sobre las aortas torácicas de ratas normoglicémicas.	155





RESUMEN

Las alteraciones fisiopatológicas producidas por la Diabetes Mellitus representa uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial, pues comprende un grupo de trastornos metabólicos que conlleva factores genéticos y ambientales, los cuales se conjugan desencadenando defectos en la producción y acción de la insulina, dando como resultado hiperglucemia que produce alteraciones a nivel de muchos órganos como el sistema cardiovascular, sistema nervioso, riñones, ojos, etc.

Por lo que este trabajo se ha centrado en las alteraciones producidas a nivel del endotelio vascular, ya que es de gran importancia conocer en toda su dimensión qué podría estar ocurriendo a este nivel y así poder contar con el conocimiento de los mecanismos y complicaciones que se desencadenan por efecto de elevadas concentraciones de glucosa en sangre; motivo por el que se desarrolló el presente trabajo, el cual fue desarrollado en el Centro de Investigación y Desarrollo Científico (**CIDEC**) de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional de San Agustín, teniendo como

finalidad, ***estudiar cuáles serían las alteraciones funcionales que sufre el endotelio vascular de anillos de aorta torácica de ratas, al ser sometido a concentraciones elevadas de glucosa (exógena) post mortem***, habiendo una probabilidad de que exista alguna similitud en cuanto a la respuesta vascular en los seres humanos que sufren de Diabetes Mellitus. Para esto se utilizó 20 ratas albinas de la especie Sprague-Dawley, de ambos sexos, con un peso promedio de $250\text{g} \pm 20\text{g}$, de tres meses de edad y que fueron alimentados en condiciones normales; una vez sacrificadas las ratas por contusión cervical, se procedió a extraer los anillos de aorta torácica, y se les agrupó en dos grupos: **Grupo A o grupo normoglicémico**, constituido por anillos de aorta torácicas sometidas a $5,5\text{ mmol/l}$ equivalente a 99 mg/dl de Glucosa, y **Grupo B o grupo hiperglicémico**, constituido por anillos de aorta torácica sometidas a 25 mmol/l equivalente 480 mg/dl de glucosa, colocándose entonces a ambos grupos por separado, dentro de la cámara de órganos aislados para su estudio correspondiente, con $750\text{ }\mu\text{l}$ (***capacidad máxima de la cámara de órganos***) de solución salina fisiológica, mantenida con burbujeo continuo de una mezcla carbogenada de gases (***95% de O_2 y 5% de CO_2***) a una temperatura de $37\text{ }^\circ\text{C}$; a continuación se dejó reposar la preparación por espacio de 60 minutos, para estabilizar la muestra y una vez lograda la estabilización se procedió a administrar las drogas en estudio para observar los resultados.

Para la determinación del patrón de vasodilatación máxima, se trabajó con el **grupo A**, al cual se adicionó primeramente, $50\text{ }\mu\text{l}$ de Noradrenalina $5\text{ }\mu\text{M}$ (NA) para determinar la máxima respuesta contráctil, durante este proceso se obtuvo que la respuesta se inicia al cabo de medio minuto de haber colocado la NA en la muestra, alcanzando el 50% de contracción al cabo de dos minutos y la máxima respuesta contracción se logró en el minuto ocho considerado ***como el 100% de contracción***; luego se administró a la muestra previamente lavada con SSF, $50\text{ }\mu\text{l}$ de Acetilcolina 10^{-5} M (ACh), para observar la respuesta vasodilatadora, obteniéndose la primera respuesta a los dos minutos de administrar la ACh, y la dilatación máxima se alcanzó en

el minuto seis, considerado como patrón el 97.8% de dilatación.

Por lo tanto, según los resultados obtenidos en ambas experiencias, quedaría demostrado que nuestras aortas, no presentan alteraciones en la respuesta vasoactiva frente a agentes vasoconstrictores ni vasodilatadores.

En segunda instancia, se sometió a ambos grupos (**A y B**) de trabajo a dosis creciente de ACh 10^{-7} , 10^{-6} y 10^{-5} M, observándose una inhibición altamente significativa de $p < 0.001$ de la respuesta vasodilatadora en el grupo B, lo que nos indicaría que probablemente la vía de la dilatación dependiente del endotelio, se encuentra dañada.

Durante la ejecución de la tercera prueba, se trabajó con ambos grupos (**A y B**) para lo que se incubó la muestra en 5 ml de L-arginina 10^{-4} M (L-arg) (**precursor de Óxido Nítrico**) por 30 minutos, en una placa Petri que contiene 8 ml de SSF, transcurrido este tiempo se adicionó primeramente 50 μ l NA 5 μ M y al cabo de 2min. se adicionó 50 μ l de ACh 10^{-5} M, para determinar la respuesta relajante dependiente del endotelio, observándose una disminución en la relajación del **Grupo B**, lo cual indicaría que probablemente la Vía del Óxido Nítrico no estaría funcionando adecuadamente, ya que se esperaba que al haber mayor cantidad de L-arginina en el medio, debería producirse mayor cantidad de Óxido Nítrico y por ende mayor sería la dilatación de las aortas torácicas.

Por último, se realizó el análisis tanto en el **grupo A** como en el **B**, para poder determinar qué estaría produciéndose en nuestra muestra **B**, que inhibe su dilatación normal, para lo que se incubó la muestra en 5 ml. de Xantino Oxidasa (XO) (**agente catalizador de la reacción química**) y con 8 ml de SSF por 30 min., transcurrido este tiempo se adicionó 50 μ l de ACh y por último 50 μ l de Hipoxantina 10^{-4} M, con lo que se produce Ácido Úrico y como producto de desecho Sustancias Reactivas de Oxígeno (**anión superóxido**), lo que sería probablemente el productor de la mayor respuesta contráctil en el **grupo B**. Para combatir este efecto producido por los radicales libres generados, se trató ambas muestras con 50 μ l de Alopurinol 10^{-4} M

(*antioxidante*), que actuaría inhibiendo no sólo la acción de la XO, con su consecuente disminución en la producción de Ácido Úrico, sino también disminuyendo la producción de radicales libres, y finalmente se lograría la mejoría de la respuesta contráctil del endotelio vascular sometido a concentraciones elevadas de glucosa.

Por lo tanto según los datos extraídos, durante la elaboración del presente trabajo de investigación, se podría concluir lo siguiente:

El exceso de glucosa en sangre sí produjo disfunción endotelial en aortas de ratas normoglicémicas, que podría deberse a la disminución en la biodisponibilidad de Óxido Nítrico; esto debido a la producción excesiva de radicales libres en el endotelio vascular, siendo este efecto inhibido por el uso de antioxidantes como el Alopurinol el cual inhibió la acción de los radicales libres generado en exceso y mejoró la vía del Óxido Nítrico.

SUMMARY

The path physiological changes caused by diabetes mellitus represents a major public health problems worldwide, as is a group of metabolic disorders that involves genetic and environmental factors, which combine triggering flaws in the production and action of insulin, giving as a result hyperglycemia that produces alterations in many organs including the cardiovascular system, nervous system, kidneys, eyes, etc. This work has focused on the alterations to the vascular endothelium, and that is very important to know the full extent of what might be happening at this level and be able to count on the understanding of the mechanisms and complications that are triggered by effect high blood glucose concentrations.

That is why this work, which was held in the Center for Scientific Research (CIDECA) of the Faculty of Human Medicine at the National University of San Agustín was developed, with the purpose to study what would be the functional alterations that suffers vascular endothelium rings rat thoracic aorta, when subjected to elevated glucose concentrations (exogenous) post mortem, there being a likelihood of a similarity in the vascular response in humans suffering from Diabetes Mellitus.

For this 20 albino Sprague-Dawley species, of both sexes, it was used with an average weight of $250\text{g} \pm 20\text{g}$, three months of age and were fed normally; Once the rats sacrificed by cervical contusion, we proceeded to extract the thoracic aorta rings, and are grouped into two groups: Group A, consisting of rings of thoracic aorta under 5.5 mmol/l equivalent to 99 mg/dl Glucose, and Group B consists of rings of thoracic aorta under 25 mmol/l equivalent 480 mg/dl glucose, it would represent a state of hyperglycemia.

Both groups were placed separately into the camera isolated organs, for appropriate study, 750ul (maximum capacity of the chamber Organs) of

physiological saline, maintained with continuous bubbling of a carbogenada gas mixture (95 % O₂ and 5% CO₂) and a temperature of 37 ° C, then allowed to stand preparation for 40 minutes to stabilize the sample and once achieved stabilization proceeded to administer drugs under study to observe the results.

To determine the normal pattern of vasodilation, we worked with the group A, which was added first, 100ul of Norepinephrine 5x10⁻³ M to determine the maximum contractile response during this process it was found that the response is initiated after Average time having placed the NA in the sample, reaching 50% shrinkage after two minutes and the maximal response was achieved contraction eighth minute (100% shrinkage) in; then the previously washed sample was administered with PBS, 100ul of 10⁻⁵ M acetylcholine to observe the dilator response, resulting in the sixth minute maximum dilation (97.8% elongation) in.

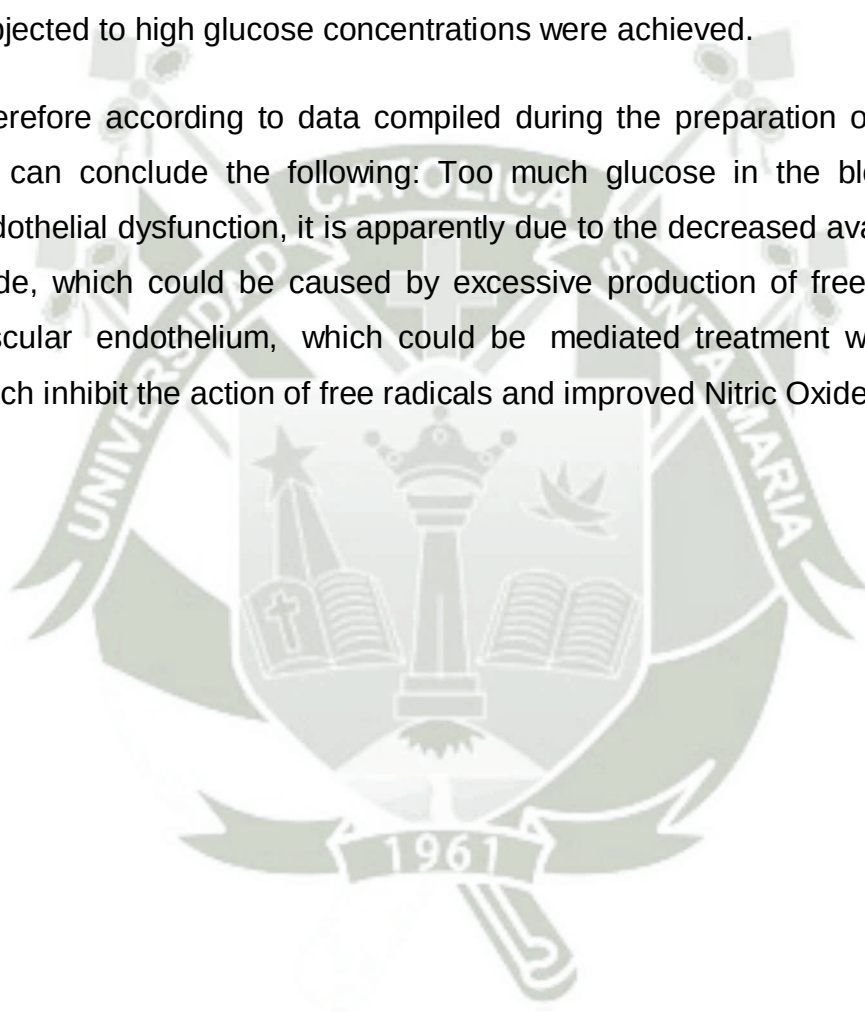
Therefore, according to the results obtained in both experiences, it would demonstrate that our aortas not show alterations in response vasoconstrictor or vasodilator. Secondly, he underwent two groups (A and B) working to increasing doses of acetylcholine 10⁻⁷, 10⁻⁶, and 10⁻⁵ M, showing a significant inhibition of p <001 vasodilator response in group B , which would indicate that probably the way of endothelium-dependent dilatation, it is damaged.

During the execution of the third test, I work with both groups (A and B) being added first 90ul 10⁻⁵ M acetylcholine and after 2 minutes 10ul of 10⁻⁴ M L-arginine (nitric oxide precursor is added) to determine the endothelium-dependent relaxation response, showing a decrease in the relaxation in Group B, which would indicate that the Way of Nitric oxide would not working properly, as one would expect to have larger amount of L-arginine in the medium, as much nitric oxide should be produced and therefore the greater would be the expansion of the thoracic aortas.

Finally, analysis of what would occur in our sample group B, being performed this analysis with 1ul of Xanthine Oxidase (catalyst for the chemical reaction)

and as 99ul of 10^{-4} M Hypoxanthine was performed, resulting in the Uric acid reaction as a waste product and Reactive Oxygen Substances (superoxide anion), which generates greater contractile response in group B, to combat this effect produced both samples were treated with Allopurinol 100 ul of 10^{-4} M, which acts by inhibiting not only the action of xanthine oxidase, with consequent decreased production of uric acid, but also decreased the production of radicals and ultimately improving the contractile response of the vascular endothelium subjected to high glucose concentrations were achieved.

Therefore according to data compiled during the preparation of this research, we can conclude the following: Too much glucose in the blood could lead endothelial dysfunction, it is apparently due to the decreased availability of nitric oxide, which could be caused by excessive production of free radicals in the vascular endothelium, which could be mediated treatment with antioxidants which inhibit the action of free radicals and improved Nitric Oxide pathway.



INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus es una enfermedad crónica considerada actualmente como un problema de Salud Pública a nivel mundial, pues comprende un grupo de trastornos metabólicos, el cual es producido ya sea por la deficiencia de la secreción de insulina, decremento del consumo de glucosa o aumento de la producción de ésta.

Siendo estas alteraciones fisiopatológicas los causantes de trastornos en muchos sistemas orgánicos, por lo tanto existe una gran necesidad de conocer en toda su dimensión la etiología primaria de esta patología, para así poder contar con el conocimiento de los mecanismos de sus complicaciones crónicas que desencadenan un daño irreversible especialmente a nivel del sistema cardiovascular, por la disfunción endotelial generada.

Debido a que en la hiperglicemia existe un estado de estrés oxidativo, el cual es resultado de la mayor cantidad producida de RLO, que contribuyen al desarrollo de aterosclerosis y daño de órganos blanco; se consideró importante el estudio del **“Efecto del incremento agudo de Glucosa (exógena) sobre la respuesta vascular de anillos aislados de aorta torácica de ratas normoglicémicas”**, para poder observar cómo el incremento de glucosa, inhibe o no sobre la capacidad vasoactiva de la musculatura lisa del tejido aórtico.

Por lo tanto, en el presente trabajo se propone observar si se produce alteraciones funcionales de los vasos sanguíneos de aortas de ratas normoglicémicas debido al tránsito elevado de niveles de glucosa sanguínea, con lo que se puede obtener como resultado, variaciones en la respuesta vasoconstrictora y vasodilatadora de dichos vasos sanguíneos. Por lo que la investigación a continuación detallada corresponde a un diseño cuantitativo de laboratorio experimental que fue desarrollado en el Centro de Investigación y Desarrollo Científico de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad

Nacional de San Agustín; y para tal efecto se utilizaron como animales de experimentación 20 ratas albinas de ambos sexos, de la especie Sprague-Dawley variedad Albina swiss, con un peso aproximado de 250 g.

Las unidades de estudio fue constituido por anillos de aorta torácica de 5 mm aproximadamente cada una, de ratas normoglicémicas a quienes se les administró en forma exógena elevadas concentraciones de glucosa para poder así determinar su respuesta máxima frente a agentes vasoconstrictores (Noradrenalina- NA) y vasodilatadores (Acetilcolina- ACh).

Además se estudió qué efecto causa la presencia excesiva de radicales libres sobre el endotelio vascular, a través de la respuesta vasodilatadora a dosis creciente de ACh (10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} M), así como también qué efecto causa la presencia de L-arginina.

De otra parte el efecto vasoconstrictor se estudió mediante la formación de derivados de oxígeno generados por el uso de la Xantino Oxidasa en presencia de Hipoxantina y dicho efecto se comparó con el uso del Alopurinol.

Finalmente según los datos obtenidos durante la elaboración del presente trabajo señalaron que si se produjo disfunción endotelial, lo cual podría deberse a la presencia de elevadas concentraciones de glucosa, el cual propicia la formación de radicales libres derivados del oxígeno a través de la vía dependiente del endotelio y que el tratamiento con antioxidantes como el Alopurinol ayudaría a producir un efecto protector contra esta inhibición.

OBJETIVOS

GENERALES:

1. Estudiar las alteraciones funcionales que sufre el endotelio vascular (**vasos arteriales**) en respuesta a los agentes vasoconstrictores y vasodilatadores como consecuencia del tránsito de sangre con elevados niveles glucosa.

ESPECÍFICOS:

1. Determinar el patrón tanto vasoconstrictor con Noradrenalina y vasodilatador con Acetilcolina de anillos aislados de aorta torácica de ratas normoglicémicas.
2. Observar el efecto vasodilatador a tres (3) dosis crecientes de Acetilcolina sobre anillos aislados de aorta torácica de ratas normoglicémicas previamente incubadas en una sobredosis de glucosa.
3. Demostrar el efecto de la L-Arginina sobre la respuesta vasodilatadora en anillos aislados de aorta torácica previamente incubados con una sobre dosis de glucosa.
4. Observar qué efecto tiene la Xantina Oxidasa en presencia de Hipoxantina sobre la actividad de la musculatura lisa de anillos aislados de aorta torácica de ratas pre-incubadas con 5,5 mM equivalente a 99 mg/dl y 25 mM equivalente a 480 mg/dl de glucosa y la respuesta frente a la incubación con Alopurinol.



HIPÓTESIS

Es probable que la pre-incubación de anillos aislados de aorta torácica de ratas normoglicémicas con una sobre dosis de glucosa pueda alterar su respuesta vasoactiva a agentes vasoconstrictores o vasodilatadores.



CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Teóricos

La Diabetes Mellitus es una enfermedad metabólica caracterizada por una agresión crónica al endotelio y asociado a un riesgo incrementado de sufrir una enfermedad vascular prematura. En donde la disfunción endotelial juega un papel preponderante en el origen de las complicaciones vasculares de la diabetes y precede a las evidencias anatómicas más tempranas de aterosclerosis. (1)

1.2. Antecedentes Históricos

La Diabetes Mellitus, es una enfermedad tan antigua como nuestra civilización, los hitos en su historia son numerosos, y muchos de importancia relevante para la ciencia.

Siendo las descripciones o investigaciones realizadas en torno a esta enfermedad a través del tiempo hecha, en muchos casos por grandes hombres de ciencias que sus nombres han trascendido a la posteridad. (2)

- En la antigüedad

La primera referencia a la Diabetes proviene de 1500 AC se encuentra en el papiro de Ebers (Egipto) encontrado en 1862 en Tebas hoy llamado Luxor, en el papiro se recoge una sintomatología que recuerda a la Diabetes y unos remedios a base de unas determinadas decocciones.

La antigua literatura hindú de los Vedas describe la orina pegajosa con sabor a miel y que atrae fuertemente a las hormigas.

Demetrio de Apenea, afinó el diagnóstico de la Diabetes y Apolonio de Memfis, acuñó el término de Diabetes (**Día = “a través” Betes = “pasar”**) para definir un estado de mucha debilidad, intensa sed y poliuria, siendo Apolonio quién creía que era una forma de hidropesía.

Pablo de Aegina refinó más aún el diagnóstico de **“dypsacus”** (diabetes) asociada a un estado de debilidad de los riñones con un exceso de la micción que conducía a la deshidratación, prescribió un remedio a base de hierbas, lechuga y trébol en vino tinto con decocciones de dátiles y mirto para beber en los primeros estadios de la enfermedad, seguido de cataplasmas a base de vinagre y aceite de rosas sobre los riñones y previno sobre el uso de diuréticos pero permitió la sangría.

Galeno pensaba que la diabetes era una enfermedad muy rara, utilizando términos alternativos como “diarrea urinosa” y “dypsacus” este último término para enfatizar la extrema sed asociada a la enfermedad. Arateus de Capadocia, quien en el siglo II de la era cristiana, le dio a esta afección el nombre de diabetes, que significa en griego “sifón o salida”, refiriéndose al signo más llamativo que es la eliminación exagerada de agua por el riñón, con lo cual quería expresar que el agua entraba y salía del organismo del diabético sin fijarse en él, prescribiendo una dieta restringida y vino diluido, mientras que en los estados terminales opio y mandrágora. (3)

- **Edad Media (Medicina Oriental y Árabe)**

La descripción detallada de la diabetes incluyendo el hecho de que la orina tenía sabor dulce se encuentra ya en la obra del célebre médico indio Súsruta, este notable médico, que vivió

probablemente en el siglo IV, escribió una extensa colección de tratados de cirugía, patología, anatomía e incluso de psicología y odontología. Súsruta daba amplias instrucciones respecto al diagnóstico: interrogaba al paciente y lo examinaba con los 5 sentidos; observaba el pulso y degustaba la orina para detectar la diabetes. En total, Súsruta describió más de 1.200 enfermedades incluyendo la diabetes, el bocio y otras enfermedades endocrinas.

La medicina india ya distinguía dos formas de diabetes: una que se daba en jóvenes delgados y que no sobreviven mucho tiempo y otra en personas mayores y obesas, que claramente corresponden con la diabetes de tipo 1 y la de tipo 2, respectivamente de nuestros días.

Hacia la misma época, los médicos chinos también conocían la diabetes y el hecho de que la orina de los diabéticos atraía a las hormigas. También describían su propensión a desarrollar una enfermedad pulmonar parecida a la tuberculosis. Para su tratamiento recomendaban evitar el vino y los cereales.

La medicina árabe puede dividirse en dos épocas: una primera época que se desarrolla principalmente en Egipto bajo la influencia de los nestorianos que difundieron la medicina griega, y una segunda época, en la que los médicos árabes, aun manteniendo un gran respeto hacia la obra de Hipócrates y Galeno, empiezan a imprimir a la medicina, en particular a la terapéutica, un sello personal.

Un buen número de médicos árabes (y excepcionalmente judíos) destacarían en aquella época en la que la medicina occidental se encontraba en franca decadencia.

Mientras que Avicena, autor del *Canon*, traducido al latín y primer exponente de la medicina árabe, describe la diabetes, como trastorno hipoglucémico y recomienda un tratamiento semillas de alholva y cedro, ambas con propiedades hipoglucemiantes. (3)

- Edad Moderna

Renacimiento y siglo XVII

A partir del siglo XVI comienza a darse descubrimientos médicos, principalmente en Europa con Paracelso (1491-1541) escribió que la orina de los diabéticos contenía una sustancia anormal que quedaba como residuo de color blanco al evaporar la orina, creyendo que se trataba de sal y atribuyendo la diabetes a una deposición de esta sobre los riñones causando la poliuria y la sed de estos enfermos.

Sin embargo, la primera referencia en la literatura médica occidental de una “orina dulce” en la diabetes se debe a Thomas Willis (1621-1675) autor de “*Celebri Anatome*” el mejor tratado de anatomía del cerebro realizado hasta la fecha. De esta manera, aparece en la medicina occidental un hecho ya conocido por la medicina oriental más de 1000 años antes. Willis escribió que “..antiguamente esta enfermedad era bastante rara pero en nuestros días, la buena vida y la afición por el vino hacen que encontremos casos a menudo...”.

La figura más sobresaliente de la medicina clínica del siglo XVII fue Thomas Sydenham (1624- 1689), doctorado en Cambridge quien hizo que la medicina volviera a regirse por los principios hipocráticos.

Sydenham especuló que la diabetes era una enfermedad sistémica de la sangre que aparecía por una digestión defectuosa que hacía que parte del alimento tuviera que ser excretado en la orina. (3)

Siglo XVIII

Unos 100 años más tarde, Mathew Dobson (1725-1784) médico inglés de Liverpool hizo por primera vez estudios en grupos de pacientes y, después de tratar un grupo de pacientes Dobson informó que estos pacientes tenían azúcar en la sangre y en la orina y describió los síntomas de la diabetes. Dobson pensaba que el azúcar se formaba en la sangre por algún defecto de la digestión limitándose los riñones a eliminar el exceso de azúcar.

Algunos años más tarde otro médico inglés, John Rollo publicó sus observaciones sobre dos casos diabéticos, describiendo muchos de los síntomas y el olor a acetona (**que confundió con olor a manzana**) y proponiendo una dieta pobre en hidratos de carbono y rica en carne, con complementos a base de antimonio, opio y digital, obteniendo con esta dieta anoréxica una reducción de los niveles de azúcar en la sangre, consiguiendo una mejora de la sintomatología en muchos casos, siendo el primero en acuñar el término de Diabetes Mellitus para diferenciar la enfermedad de otras formas de poliuria. También es de esta época la observación de Thomas Cawley en 1788 de que la Diabetes Mellitus tenía su origen en el páncreas, *“por ejemplo por la formación de un cálculo”*. (3)

Siglo XIX

La era de racionalidad que se inició en Francia con la revolución Francesa y continuó a lo largo del siglo XIX, con el comienzo de

una ciencia experimental, permitió que se consiguieran más avances en medicina de los que se habían conseguido en todos los siglos anteriores.

Una de las mayores figuras fue el fisiólogo francés Claude Bernard (1813-1878) que realizó importantes descubrimientos incluyendo la observación de que el azúcar que aparece en la orina de los diabéticos había estado almacenado en el hígado en forma de glucógeno, también demostró que el sistema nervioso central estaba implicado en el control de la glucosa al inducir una glucemia transitoria en el conejo consciente estimulando la médula, por lo que realizó numerosos experimentos con el páncreas desarrollando el modelo de ligadura del conducto pancreático y aunque no llegó a atribuir a este órgano un papel endocrino, permitió a otros demostrar que con esta técnica se inducía la degeneración del páncreas exocrino manteniendo intacta la función endocrina; por lo que las funciones del páncreas como glándula, se demostró que era capaz de reducir los niveles de glucosa en sangre.

En 1889, Oscar Minkowsky y Josef von Mering, tratando de averiguar si el páncreas era necesario para la vida, realizaron una pancreotomía a un perro, después de la operación ambos investigadores observaron que el perro mostraba todos los síntomas de una severa diabetes, con poliuria, sed insaciable e hiperfagia, así mismo se observó, hiperglucemia y glucosuria; siendo de esta manera demostrado que el páncreas era necesario para regular los niveles de glucosa y estimuló a muchos investigadores a tratar de aislar del páncreas un principio activo como un posible tratamiento de la enfermedad.

Ya en 1869 un joven médico Berlínés, Paul Langerhans mientras que trabajaba en su tesis doctoral, había observado unos racimos de células pancreáticas bien diferenciadas de las demás y que podían ser separadas de los tejidos de los alrededores. Langerhans, que entonces tenía 22 años, se limitó a describir estas células sin entrar a tratar de averiguar cuál era su función.

Hubo que esperar hasta 1893, fecha en la que un médico Belga, Eduard Laguesse, sugirió que estos racimos de células, que él había llamado “Islotes de Langerhans” constituían la parte exocrina del páncreas. Sus ideas fueron continuadas por Jean de Meyer quien denominó “Insulina” a la sustancia procedente de los islotes (en latín islote se denomina “Insulina”) que debía poseer una actividad hipoglucemiante pero que todavía era hipotética.

Uno de los primeros investigadores en obtener resultados fue el alemán George Zuelger quién obtuvo una serie de extractos pancreáticos que eran capaces de reducir los síntomas de diabetes en un perro previamente pancreatectomizado, publicando sus resultados en 1907 e incluso patentó su extracto (“Acomatol”); sin embargo, los graves efectos tóxicos que producía hicieron que renunciase a seguir sus experimentaciones.

Luego el médico rumano Nicolás Paulesco también preparó un extracto a partir de páncreas congelados de perro y de buey y demostró que los mismos eran capaces de revertir la hiperglucemia, de hecho, uno de los extractos preparados por Paulesco era tan potente, que uno de los perros tratados murió debido a una hipoglucemia. Finalmente debido a la Primera Guerra Mundial, las observaciones de Paulesco sobre los efectos de su “Pancreatina” no fueron publicadas hasta 1921, pero igual

que en el caso de Zuelger, los efectos tóxicos de los extractos excluían cualquier posibilidad de una administración terapéutica.

A pesar de que teóricamente se estaba próximo a resolver el problema de la diabetes, la verdad es que hasta entrados los años 20, los diabéticos tenían pocas posibilidades de sobrevivir, ya que las dietas anoréxicas promovidas por el diabetólogo bostoniano Frederick M. Allen, solo conseguían prolongar en unos pocos meses la vida. Los tratamientos existentes en poco diferían de los propuestos por Arateus, casi 2000 años antes.

Dentro de otros descubrimientos relacionados con la diabetes también tuvieron lugar en la segunda mitad del siglo XIX, teniendo a William Prout (1785-1859) quién asoció el coma a la diabetes; el oftalmólogo americano, H.D. Noyes observó que los diabéticos padecían una forma de retinitis y Kussmaul (1822-1902) describió la cetoacidosis. (3)

Descubrimiento de la Insulina

La insulina fue descubierta en el verano 1921 por Sir Frederick Grant Banting como consecuencia de una serie de experimentos realizados en la cátedra del Prof. John J. R. MacLeod, profesor de fisiología de la Universidad de Toronto. Dándole vueltas al problema, en 1921, Banting leyó una publicación de un tal Moses Baron en la que se demostraba que la ligadura del conducto pancreático ocasionaba la degeneración de las células productoras de la tripsina, mientras que los Islotes de Langerhans permanecían intactos.

Banting entonces, consiguió convencer a MacLeod para que, durante las vacaciones de este le asignara un ayudante y le

permitiera utilizar sus laboratorios, siendo este ayudante Charles Best, estudiante de Química quien fue el encargado de aislar la presunta proteína. En tan solo 9 semanas, luchando contra reloj, Banting y Best ligaron el conducto pancreático de varios perros y obtuvieron un extracto de páncreas libre de tripsina. Después, provocaron una diabetes experimental en otros perros y, una vez desarrollada la enfermedad, comprobaron que la administración del extracto de páncreas de los primeros reducía o anulaba la glucosuria de los segundos.

Habían descubierto la Insulina, lo que significó una de las más grandes conquistas médicas del siglo actual, porque transformó el porvenir y la vida de los diabéticos y abrió amplios horizontes en el campo experimental y biológico para el estudio de la diabetes y del metabolismo de los glúcidos. (3)



Frederick Banting John J.R MacLeod Charles Best

Figura 1, Ganadores del Premio Nobel de Medicina 1923 -Aislamiento de la Insulina. (3)

FUENTE: Recuperado de Instituto Biológico-2014 "Historia de la Diabetes" [En línea] de: http://www.iqes.es/d_mellitus/historia/historia01htm.

1.3. Diabetes Mellitus

La Diabetes Mellitus es un conjunto de trastornos metabólicos, que comparten la característica común de presentar elevados niveles de

glucosa en la sangre (**Hiperglicemia**) de manera persistente o crónica, es decir que se caracteriza por un déficit total o parcial de insulina que provoca un mal aprovechamiento de los hidratos de carbono que ingresan a nuestro cuerpo a través de los alimentos que ingerimos e impide su transformación en energía, dando lugar al aumento de los niveles de glucosa en la sangre y a la eliminación de la misma por la orina.

Debido a que durante la digestión se descomponen los alimentos para crear glucosa que es la mayor fuente de combustible del cuerpo; esta pasa a la sangre, donde la insulina (**Hormona que regula los niveles de azúcar en el cuerpo, y que es segregada en el páncreas**) y permite su ingreso a las células, es decir que, sin la insulina, la cantidad de azúcar en la sangre permanece demasiado alta, y esto distorsiona muchas funciones críticas en el cuerpo. (4)

1.3.1. Causas de la Diabetes Mellitus

Para comprender el mecanismo por el cual se produce la diabetes, es importante entender primero el proceso normal por medio del cual el alimento se descompone y es empleado por el cuerpo para obtener energía.

Cuando el alimento ingresa al cuerpo este es transformado en glucosa, que es fuente de energía para las células del cuerpo, entonces la glucosa entra en el torrente sanguíneo, una vez allí el páncreas produce la insulina (**hormona producida por el páncreas para controlar el azúcar en la sangre**), cuyo papel es transportar la glucosa del torrente sanguíneo hasta los músculos, la grasa y las células hepáticas, donde puede almacenarse o utilizarse como energía.

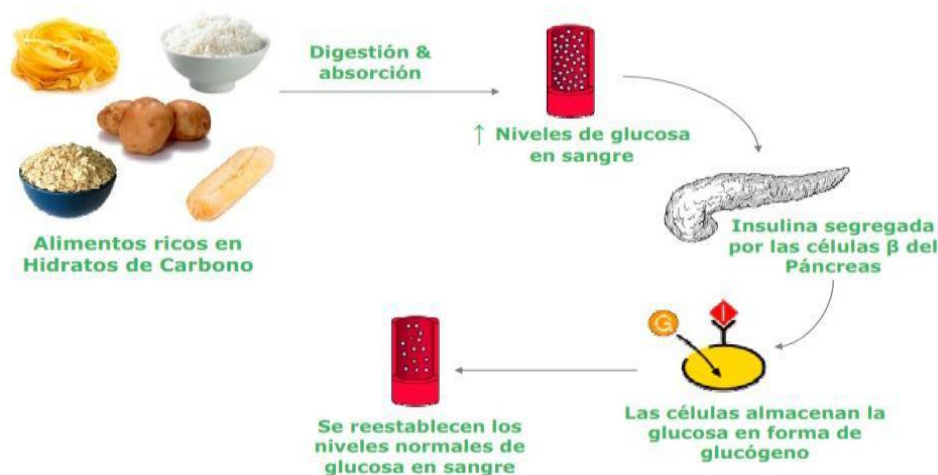


Figura 2, Acción de la Insulina frente al incremento de Glucosa en sangre. (3)

FUENTE: Recuperado de "Diabetes Mellitus-2011" [En línea] de: <http://www.jaberfitness.com>.

Las personas con diabetes presentan hiperglucemia, debido a que su cuerpo no puede movilizar el azúcar desde la sangre hasta los adipocitos y células musculares para quemarla o almacenarla como energía, por lo tanto el hígado produce demasiada glucosa y la secreta en la sangre. (5)

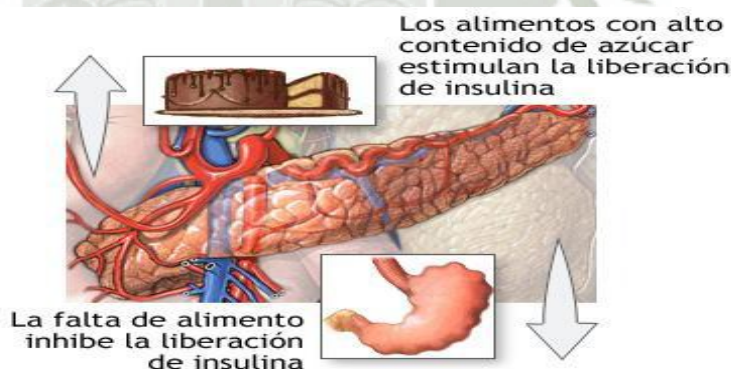


Figura 3, Causas de la elevación de los niveles de Glucosa en sangre. (6)

FUENTE: Recuperado de "Biblioteca Nacional de Medicina de los E.E.U.U-2014 . [En línea] de: <http://www.nlm.nih.gov/medlinesplus/spanish/ency/article/001214.htm>.

Esto se produce debido a las siguientes razones:(6)

- El páncreas no produce suficiente insulina.

- Las células no responden de manera normal a la insulina.
- Ambas razones anteriores.

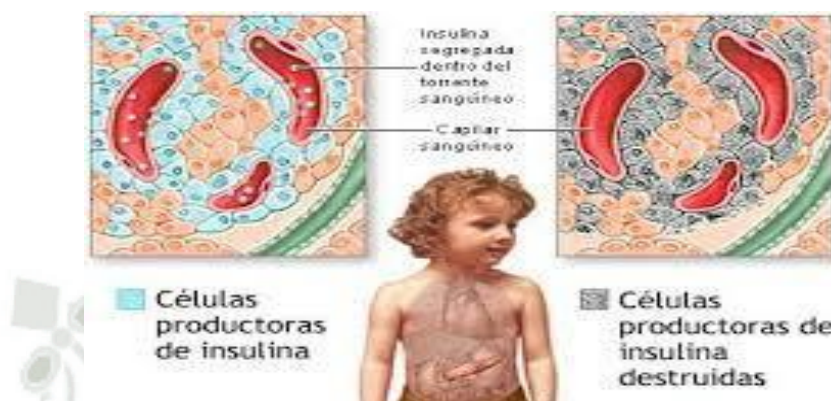


Figura 4, Acción del páncreas en estado normal y en Diabetes. (6)

FUENTE: Recuperado de "Biblioteca Nacional de Medicina de los E.E.U.U. 2014"

<http://www.nlm.nih.gov/medlinesplus/spanish/ency/article/001214.htm>.

1.3.2. Factores de riesgo

Los factores de riesgo que pueden servir como desencadenante de diabetes son: (7)

- Herencia genética.
- Autoinmunidad (HLA).
- Factores ambientales como la dieta y el sedentarismo son muy importantes en relación de la diabetes.

1.3.3. Tipos de Diabetes

Según la **American Diabetes Association**, clasifica a la diabetes en tres tipos fundamentales los cuales se describen a continuación: (4)

1.3.3.1. Diabetes tipo 1 o Insulino Dependiente

Su prevalencia es del 10% es conocido también como diabetes juvenil, porque normalmente comienza durante la infancia.

Se caracteriza por la destrucción de las células beta del páncreas, llevando a la deficiencia absoluta de Insulina, por lo que se origina por una afección autoinmune, o sea, el sistema inmunológico o defensas del organismo confunde las células que producen insulina con células extrañas, las ataca y destruye, predisponiendo a una descompensación grave del metabolismo llamada Cetoacidosis, donde el cuerpo no puede utilizar glucosa como fuente de energía, debido a que no hay o hay muy poca Insulina, utilizando entonces como fuente energéticas a las grasas, siendo sus metabolitos sustancias tóxicas que se acumulan en la sangre y producen; dolores de cabeza, hambre, nerviosismo, palpitaciones, temblores, sudoración y debilidad. (6-8)

Por lo que sin Insulina suficiente, la glucosa se acumula en el torrente sanguíneo en lugar de ingresar a las células produciendo Hiperglucemia, motivo por el cual las personas que padecen esta enfermedad deben inyectarse insulina para poder vivir. (9)

Pero existen además ciertos factores ambientales que predisponen a sufrir de este tipo diabetes, siendo los dos candidatos ambientales más probables, las infecciones virales como la rubeola, la parotiditis y ciertas proteínas presentes en la dieta como la Albúmina de la leche de vaca y la Gliadina del gluten, que pueden desencadenar una destrucción autoinmunitaria de las células beta del páncreas.

Síntomas presentes en la diabetes tipo 1

Los síntomas más frecuentes son: poliuria, polifagia, bajada de peso, aumento de la sed, náuseas, vómitos, visión borrosa, fatiga, bajada de peso, disfunción eréctil y dentro de los síntomas menos comunes infecciones de la piel, de los riñones y vejiga.



Figura 5, Síntomas de la Diabetes Mellitus tipo 1 (8).

FUENTE: Recuperado de "Qué es la Diabetes Mellitus" Servicio de Diabetología del Hospital de Córdova-2013 [En línea] de: <https://www.diabeteshospitaldecordova.com>

Pruebas y Exámenes

- Nivel de glucemia en ayunas.

Se diagnostica la diabetes cuando sus niveles son mayores a 126 mg/dl en dos ocasiones diferentes.

- Nivel de glucemia aleatoria sin ayuno.

Se diagnostica diabetes cuando los valores son superiores a 200 mg/dl y presenta síntomas clásicos de diabetes, este examen se debe confirmar con el anterior examen.

- Prueba de tolerancia a la glucosa oral.

Se diagnostica la diabetes si los niveles de glucosa son superiores a 200 mg/dl dos horas después de beber una bebida azucarada especial.

Tratamiento

Debido a que la Diabetes Mellitus tipo 1 puede presentarse

rápidamente y los síntomas pueden ser graves, las personas que reciben el diagnóstico probablemente deberán estar hospitalizadas, con el fin de monitorear su glucemia y adecuar las dosis correctas de Insulina, que deberá administrarse diariamente debajo de la piel mediante el uso de una jeringa, no puede administrarse de forma oral, porque el ácido del estómago lo destruye. (9)

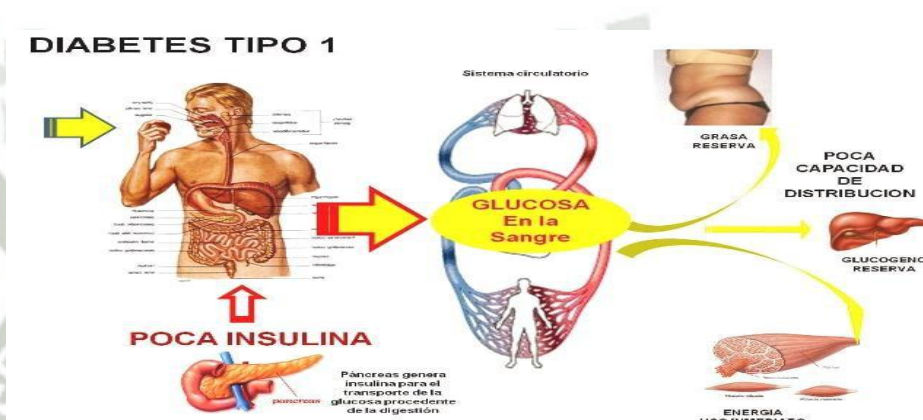


Figura 6, Diagrama de la Diabetes Mellitus tipo 1. (6)

FUENTE: Recuperado de Bioquímica del Desarrollo de la Diabetes Mellitus [En línea] de: <http://image.slidesharecdn.com/>

1.3.3.2. Diabetes tipo 2 o Insulinorresistente

Es el tipo de diabetes más común, presentándose en adultos mayores de 40 años con sobrepeso, sedentarios y con antecedentes familiares de diabetes pero ahora también se presenta en niños con obesidad, pero también se puede presentar en personas delgadas sobre todo en ancianos. (10)

En este tipo de Diabetes el cuerpo sí produce insulina, pero o bien no produce lo suficiente, o no puede aprovechar la que produce, es decir que no puede escoltar a la glucosa al interior de las células, esto debido a que los adipocitos, hepatocitos y células musculares no responden de manera correcta, lo cual se conoce

como **Resistencia a la Insulina**, lo cual produce que la glucosa se concentre en la sangre.

Por lo que entonces el cuerpo se ve privado de su principal fuente de energía, por ende los niveles de glucosa en la sangre se elevan produciendo daños en los vasos sanguíneos, los riñones y los nervios.

Por lo general este tipo de diabetes se desarrolla lentamente con el tiempo, la mayoría de personas que sufren de este mal tienen sobrepeso o son obesas, ya que el aumento de grasa en el cuerpo dificulta el uso correcto de la Insulina; (10-11).



Figura 7, Acción de la Glucosa en la Diabetes Tipo 2. (10)

FUENTE: Recuperada Instituto de Diabetología-2010 [En línea] de:

<https://www.lookfordiagnosis.com>.



Figura 8, Niveles de Glucosa en sangre normal y en Diabetes tipo 2. (10)

FUENTE: Recuperada Diabetes Tipo 2-2015" [En línea] de: <http://www.nlm.nih.gov>

Síntomas

Las personas con diabetes tipo 2 generalmente no presentan síntomas al principio y es posible que no tengan síntomas durante muchos años, si se presentan estos pueden abarcar: Infección en la vejiga, el riñón, la piel u otras infecciones que son más frecuentes o sanan lentamente, fatiga, hambre, aumento de la sed, aumento de la micción, visión borrosa, disfunción eréctil, dolor o entumecimiento en los pies o las manos. (10)

Pruebas y exámenes

El médico puede sospechar que usted tiene diabetes si su nivel de azúcar en la sangre es superior a 200 mg/dl para confirmar el diagnóstico, se deben hacer uno o más de los siguientes exámenes:

- ***Nivel de glucemia en ayunas.***

Se diagnostica diabetes si el resultado es mayor a 126 mg/dl en dos momentos diferentes.

- ***Examen de hemoglobina Glicosilada ó A1c.***

Normal: Menos de 5.7%. **Prediabetes:** Entre 5.8 y 6.4%.
Diabetes: 6.5% o más.

- ***Prueba de tolerancia a la glucosa oral.***

Se diagnostica diabetes si el nivel de glucosa es superior a 200 mg/dl 2 horas después de ingerir una bebida azucarada especial.

Siendo estas pruebas elementales para la de detección de diabetes y se recomienda en los siguientes casos:

- Niños con sobrepeso que tengan otros factores de riesgo para diabetes, a partir de los 10 años y repitiendo cada dos años.
- Adultos con sobrepeso (IMC de 25 o superior) que tengan otros factores de riesgo.
- Adultos a partir de los 45 años cada tres años o a una edad menor si la persona tiene factores de riesgo.

Estos exámenes necesarios pues ayudara tanto al paciente como a su médico puedan vigilar y prevenir los problemas que derivan de la diabetes, esto por medio de la revisión de la piel y los huesos en los pies y las piernas, revisión si los pies se están entumeciendo, que indicaría una neuropatía diabética, además se debe realizar periódicamente examen de la parte posterior del ojo con un instrumento especial con luz, revisión de la presión arterial al menos cada año (***presión arterial ideal para diabéticos de 140/80 mm/Hg o más baja***), revisar la A1c (***hemoglobina glicosilada***) cada 6 meses para saber si se está controlando bien la diabetes. Cada 3 meses hacer una revisión de los niveles de colesterol y triglicéridos, verificar en forma anual el funcionamiento normal de los riñones mediante el examen de microalbuminuria y creatinina en suero, visitar al odontólogo cada 6 meses para una limpieza y examen dental completo. (10).

Tratamiento

Consiste en tener una dieta sana y balanceada, realizar ejercicios con frecuencia y la administración de antidiabéticos orales como:

- Los que estimulan la secreción de insulina
 - **Sulfonilureas:** Su efecto hipoglucemiante se realiza por

estímulo en la secreción de Insulina a nivel de las células betas pancreáticas. Iniciando su acción tras su unión a un receptor específico provocando el bloqueo de los canales de salida de potasio ATP-dependiente; lo que lleva a una despolarización de la membrana celular e incrementando el flujo de calcio al interior de la célula produciendo entonces la salida de Insulina por exocitosis, en este grupo tenemos a la Clorpropamina, Glibenclamida y Glimepirida.

- Los que disminuyen la resistencia a la insulina
 - **Que actúan a nivel del hígado**, cuya acción es mediada por la disminución en la liberación hepática de glucosa como la Metformina.
 - **Que actúan a nivel de los tejidos periféricos**, cuya acción en mediada por la captación de glucosa como la Tiazolidinediona.
- Los que disminuyen la absorción de hidratos de carbono.

Son aquellas que producen la inhibición de las enzimas alfa glucosidasas intestinales, mediante el desdoblamiento de los disacáridos en monosacáridos, como la Acarbosa.

1.3.3.3. Diabetes Gestacional

Se presenta durante el embarazo, debido a que las hormonas del embarazo bloquean la función de la Insulina, produciendo que los niveles de glucosa en la mujer embarazada se vean elevados, por lo general este tipo de diabetes se presenta cuando: (12)

- Tiene más de 25 años al quedar embarazada.

- Presenta antecedentes familiares de diabetes.
- Dio a luz un bebé con más 4 kg. de peso.
- Sufre de hipertensión arterial.
- Tiene demasiado líquido amniótico.
- Ha presentado un aborto natural.
- Tiene sobre peso durante el embarazo.
- Presenta síndrome de ovario poliquístico.

Síntomas

Generalmente no hay síntomas o son muy leves además de que suele desaparecer luego del parto, los síntomas más comunes son: visión borrosa, fatiga, infección urinaria, de la piel y vejiga, aumento de la sed, incremento de la micción, náuseas y vómitos y suele observarse pérdida de peso a pesar del aumento del apetito.

(12)

Pruebas y exámenes

La diabetes gestacional empieza en la mayoría de los casos a la mitad del embarazo, por lo que todas las mujeres embarazadas deben recibir una prueba oral de tolerancia a la glucosa entre las semanas 24 y 28 del embarazo para detectar la afección, mientras que las mujeres que tengan factores de riesgo para este tipo de diabetes pueden hacerse este examen más temprano en el embarazo. Una vez que le diagnostican diabetes gestacional, puede ver cómo está evolucionando midiendo su nivel de glucosa en casa, siendo la forma más común punzando un dedo y colocar una gota de sangre en un aparato que le dará una lectura de su nivel de glucosa. (11-12)

Tratamiento

Los objetivos del tratamiento son mantener los niveles de azúcar en la sangre (**glucosa**) dentro de los límites normales durante el embarazo y asegurarse de que el feto esté saludable. (12)

- ***Vigilancia del feto***

El proveedor de atención médica debe examinarlos con cuidado tanto a usted como al feto a lo largo de todo el embarazo, mediante un monitoreo fetal (**cardiotocografía**), donde se evalúa el tamaño y la salud del feto, es un examen que se realiza en reposo, siendo indoloro y sencillo para la gestante y su bebé, en donde se coloca una máquina que percibe y muestra los latidos cardíacos del sobre su abdomen, en esta prueba se debe comparar el patrón de latidos del bebé con los movimientos y averiguar si el bebé está bien.

- ***Dieta y ejercicio***

La mejor manera de mejorar su alimentación es consumir una variedad de alimentos saludables, para lo cual la paciente debe aprender a leer las etiquetas de los alimentos y revisarlas al tomar decisiones sobre estos, debe hablar con su médico si usted es vegetariana o sigue alguna otra dieta especial, en general, cuando se tiene diabetes gestacional su dieta debe: Ser moderada en grasa y proteína, suministrar carbohidratos a través de alimentos que incluyan frutas, verduras y carbohidratos complejos (tales como pan, cereal, pasta y arroz), incluir poca cantidad de alimentos que contengan mucho azúcar, tales como bebidas gaseosas, jugos de fruta y panes dulces.

Si el manejo de la dieta no controla los niveles de azúcar (*glucosa*) en la sangre, se le pueden prescribir medicamentos orales para la diabetes o tratamiento con insulina.

1.3.4. Niveles normales de Glucosa

En ayunas: De 70 a 100 mg/dl.

Dos horas después de ingerir alimentos: < de 140 mg/dl. (13)

1.3.5. Niveles óptimos de glucosa en pacientes pre diabéticos

En ayunas: De 100 a 125 mg/dl.

Dos horas después de ingerir alimentos: De 140 a 199 mg/dl. (13)

1.3.6. Niveles óptimos de glucosa en paciente diabéticos

En ayunas: > 126 mg/dl.

Dos horas después de ingerir alimentos: ≥ a 200 mg/dl. (13)

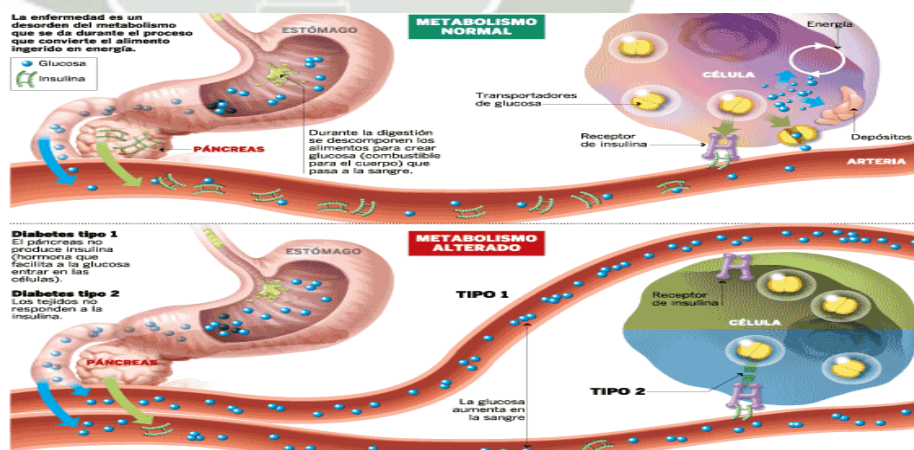


Figura 9, Cambios que se producen en el organismo en estado normal y alterado. (6)

FUENTE: Recuperado de Biblioteca Nacional de Medicina Humana de E.E.U. [En línea] de: <http://www.nlm.nih.gov>.

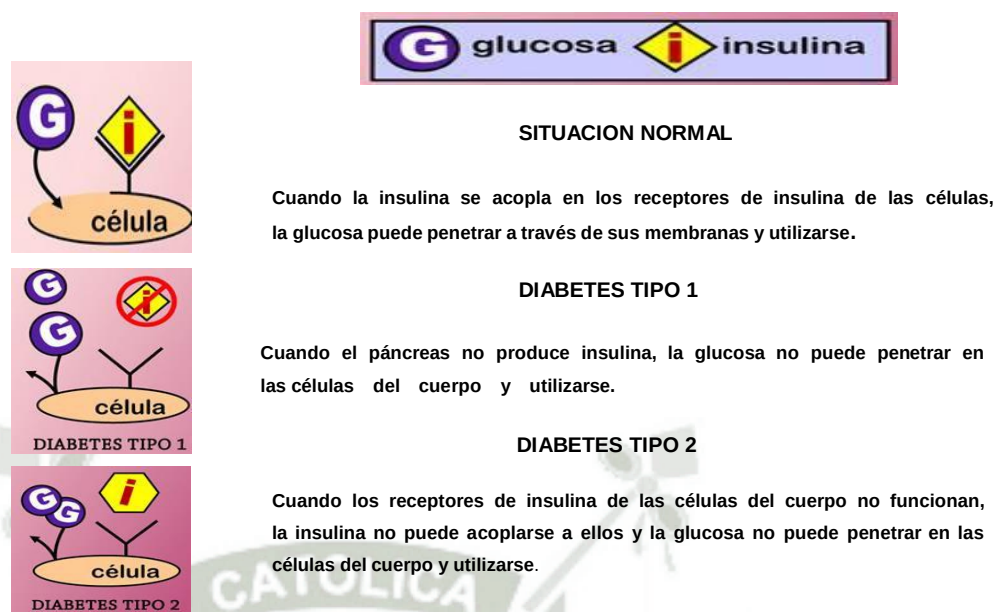


Figura 10, Acople de la insulina a sus receptores. (6)

FUENTE: Recuperado [En línea] de: <https://www.planetaj.cruzrojamexicana.org.mx>

1.4. LA INSULINA

Es una hormona polipeptídica formada por 51 aminoácidos, necesaria para transformar el azúcar de los alimentos en la energía que necesitamos para realizar las actividades de nuestra vida diaria. Es producida y secretada por las **células beta de los Islotes de Langerhans del páncreas**, órgano que se encuentra ubicado en la región izquierda del abdomen, que interviene en el aprovechamiento metabólico de los nutrientes, sobre todo el procesos anabólicos (*proceso en donde dos o más sustancias se unen para formar un nuevo compuesto más complejo*) de los glúcidos. (14)

La glucosa es transportada por la sangre hasta las células del cuerpo, donde la insulina le “abre la puerta” como una llave en la cerradura para que ingrese a las mismas y cumpla la función de darnos energía. (7)

Cuando la cantidad de insulina no es suficiente, la puerta no se abre y no ingresa glucosa a las células por lo que permanece en la sangre y genera la hiperglucemia o glucemia elevada. (14)

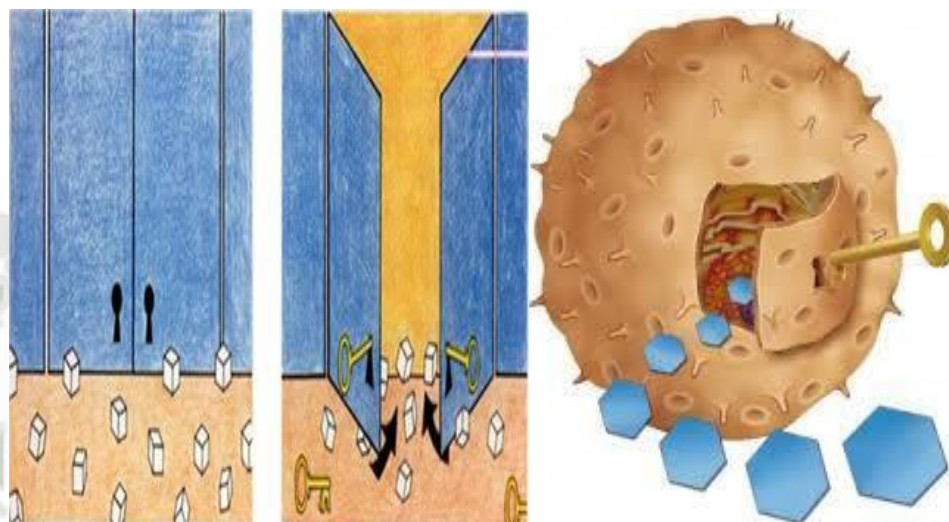


Figura 11, La insulina llave de ingreso de la glucosa a las células del cuerpo. (7)

FUENTE: Recuperado de: Servicio de Diabetología del Hospital de Córdoba "Qué es la Diabetes Mellitus" [En línea] de: <https://www.diabeteshospitalcordoba.com>



Figura 12, Mecanismo de Acción de la Insulina. (7)

FUENTE: Recuperado de Servicio de Diabetología del Hospital de Córdoba "Qué es la Diabetes Mellitus" [En línea] de: <https://www.diabeteshospitalcordoba.com>

1.4.1. Síntesis de la Insulina

La Insulina es secretada solamente en las células beta del páncreas, esto mediante la transcripción y traslación del ADN, siempre y cuando las células Beta se encuentran bien estimuladas mediante exocitosis (*proceso por el cual las vesículas situadas en el citoplasma se fusionan con la membrana citoplasmática y liberan sus moléculas*), la insulina entonces se difunde a través de los vasos sanguíneos del páncreas. (15)

El gen responsable de la síntesis de Insulina está en el brazo del cromosoma 11, siendo el primer péptido de sus síntesis la Pre Insulina, entonces a nivel del retículo endoplasmático se produce un plegamiento especial dando lugar a la formación de la Pro Insulina y luego en el aparato de Golgi, se estructura una membrana alrededor de un núcleo de moléculas, constituyendo un gránulo, seguidamente por acción de enzimas proteolíticas la Pro-Insulina genera cantidades equimolares de Insulina y Péptido C, adicionalmente, existe captación de Zinc, formándose moléculas de Zinc-Insulina. (16) La progresión de los gránulos hacia la membrana plasmática se hace a través de micro túbulos impulsados por filamentos ciliares contráctiles y gradientes de potencial electroquímico. (14)

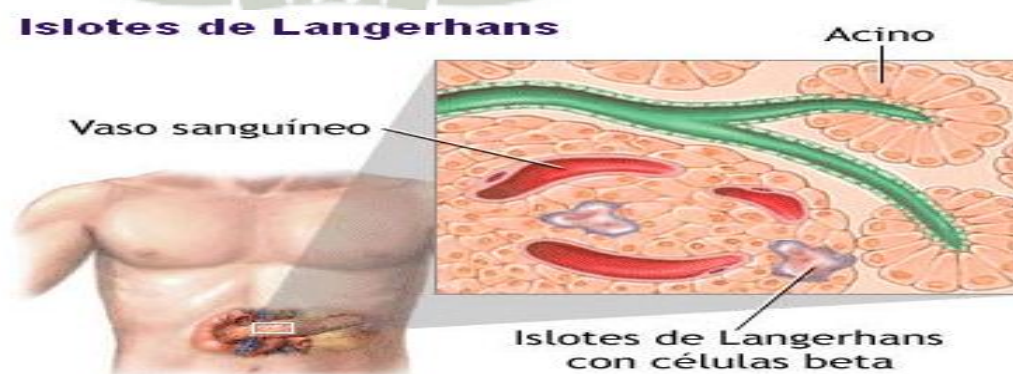


Figura 13, Síntesis de Insulina en los Islotes de Langerhans.

FUENTE: Recuperado [En línea] de: <https://www.tuendocrinologo.com>

1.4.1.1. Funciones de la Insulina

1.4.1.2. Ayuda al ingreso de la glucosa a las células del cuerpo

La insulina es como una llave que abre la cerradura de las puertas de las células de cuerpo para que la glucosa entre y sea utilizada como energía, si la glucosa no puede entrar en las células, se acumula en la sangre, lo cual a largo plazo puede traer serias complicaciones en la salud, cuando los niveles de azúcar alcanzan cierto nivel, los riñones tratan de eliminarla por medio de la orina, lo cual produce que el paciente con más frecuencia de poliuria; ocasionando que se sienta cansado, sediento y hambriento además de perder peso; motivo por lo que el cuerpo comienza a utilizar energía a partir de un azúcar complejo denominado Glucógeno, que se almacena en el hígado y en los músculos, por lo que el hígado convierte el glucógeno en glucosa y lo libera en el torrente sanguíneo, elevando los niveles de glucosa; esto se produce especialmente en las noches, dando como resultado la elevación de los niveles de glucosa sanguínea en las mañanas lo cual se puede evitar con la inyección de insulina para mantener los niveles normales de glucosa por las mañanas. (14-16)

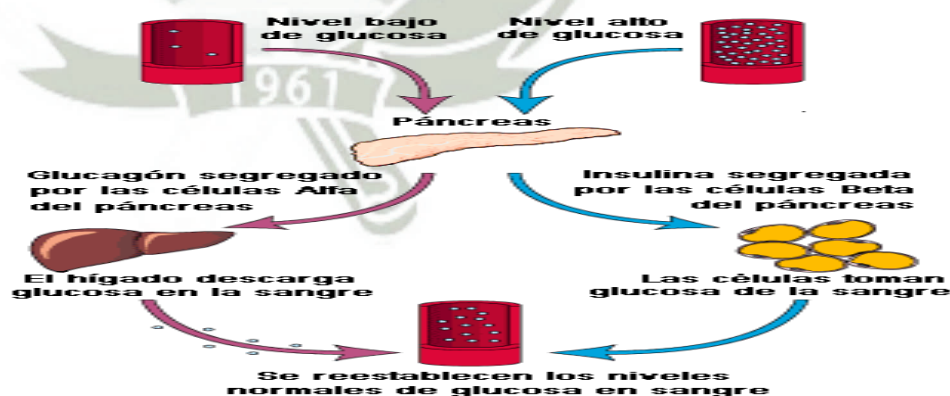


Figura14, Acción de la Insulina en la regulación de glucosa en sangre. (16)

FUENTE: Recuperado de "Guía de Alimentación y salud Facultad de Ciencias, Nutrición y Dietética – UNED 2015" [En línea] de: <http://www.uned.es>.



Figura 15, Ingreso de la Glucosa gracias a la Insulina. (16)

FUENTE: Recuperado de "Guía de Alimentación y salud" Facultad de Ciencias, Nutrición y Dietética – UNED 2015 [En línea] de: <http://www.uned.es>

1.4.1.3. Ayuda a la formación de músculos:

Cuando se ha estado enfermo, sufrido un accidente o después de una cirugía, la insulina ayuda a cicatrizar o curar, llevando los aminoácidos (**material para formar los músculos**) a sus músculos, entonces los aminoácidos reparan el daño producido y lo ayudan a recuperar su tamaño y su fuerza. Por lo que si no hay suficiente insulina en el cuerpo cuando los músculos sufren un accidente, los aminoácidos no pueden cumplir su función y entonces empezarán a debilitarse. (16)

1.4.1.4. Función reguladora sobre el metabolismo

- Estimula la gluconeogénesis o glucogénesis

Que es ruta metabólica anabólica que permite la síntesis de glucógeno (**polisacárido de reserva energética, formado por cadenas ramificadas de D-glucosa, es la principal forma de almacenamiento de los carbohidratos tanto en animales como en las plantas y funciona como combustible en esfuerzos intensos**).

Esto se da lugar casi exclusivamente en el hígado y en menor medida en el músculo, en estados metabólicos como el ayuno. (17)



Figura 16, Glucogénesis – Formación de Glucosa 6 Fosfato. (17) FUENTE:

Recuperado de: "Glucogénesis y Glucogenólisis" [En línea] de:

<http://es.slideshare.net/gisss8/glucogenesis-y-glucogenolisis>.

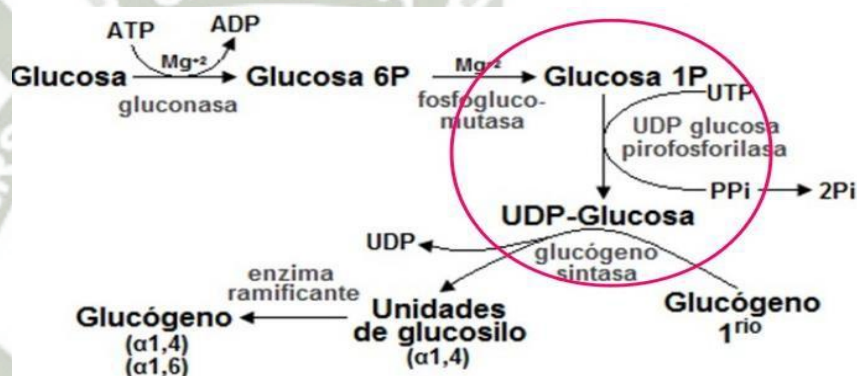


Figura 17, Gluconeogénesis formación de Glucosa 1 Fosfato en UDP – Glucosa. (17)

FUENTE: Recuperado de "Glucogénesis y Glucogenólisis" [En línea] de:

<http://es.slideshare.net/gisss8/glucogenesis-y-glucogenolisis>.

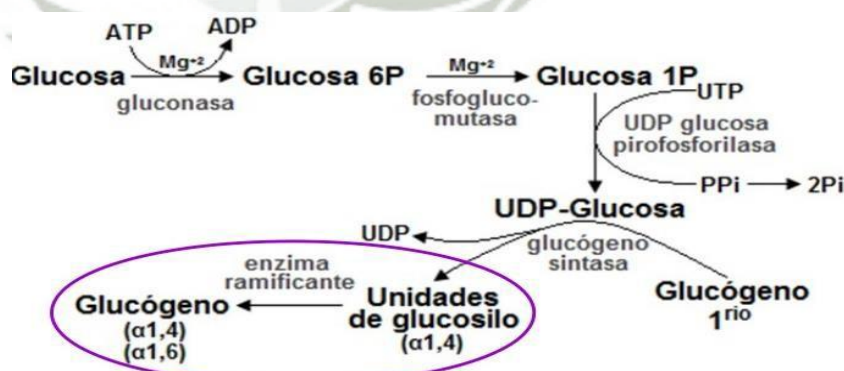


Figura18, Gluconeogénesis – Formación de Glucógeno. (17)

FUENTE: Recuperado de "Glucogénesis y Glucogenólisis" [En línea] de:

<http://es.slideshare.net/gisss8/glucogenesis-y-glucogenolisis>

- **Inhibe la Glucogenólisis**

La Glucogenólisis es un proceso catabólico (*reacciones de degradación a partir de una molécula compleja en otras más simples, produciéndose en esta ruptura liberación de energía-reacción exergónicas*) que se lleva a cabo en el citosol, consiste en la remoción de un monómero de glucosa de una molécula de glucógeno mediante la fosforilación para producir Glucosa 1 fosfato, que después se convertirá en Glucosa 6 fosfato. Este proceso se produce cuando el organismo requiere un aumento de glucosa; entonces el glucógeno empieza a degradarse y de este modo se libera la glucosa a la sangre y mantiene sus niveles en forma correcta, siendo estimulado por el glucagón (*hormona peptídica de 29 aminoácidos, que es sintetizada por las células α del páncreas, cuya secreción fomenta la disminución de la Fructuosa-2-6- fosfato y el aumento de la glucogénesis*) en el hígado y por la epinefrina (*Adrenalina*) en el músculo. (17)

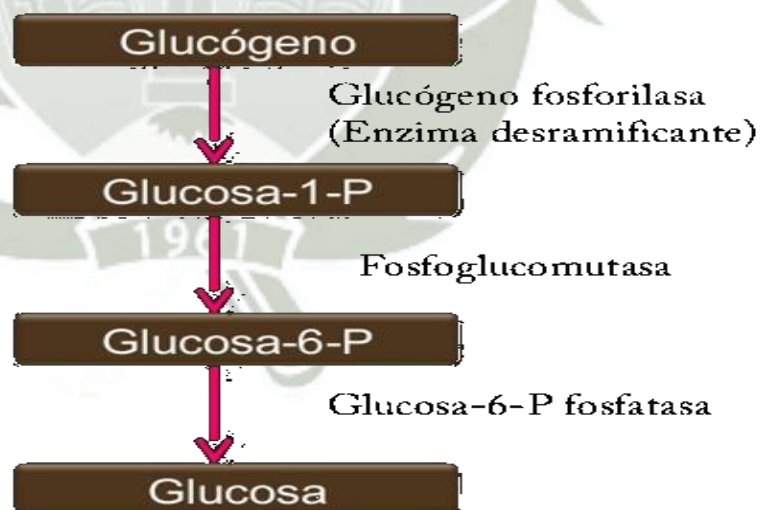


Figura19, Proceso de la Glucogenólisis. (17-18)

FUENTE: Recuperado de: "Glucogenólisis" [En línea] de:

<http://es.slideshare.net/gisss8/glucogenesis-y-glucogenolisis>.

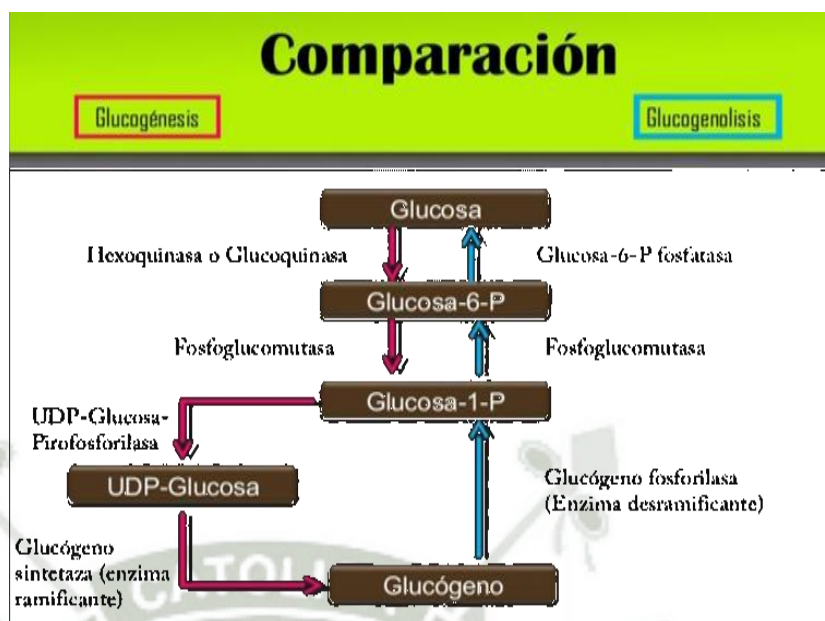


Figura 20, Cuadro comparativo entre la Glucogénesis y la Glucogenólisis. (17-18) FUENTE:

Recuperado de: "Glucogénesis" [En línea] de: <http://es.slideshare.net/qisss8/glucogenesis-y-glucogenolisis>.

- **Promueve la glucólisis**

Se produce cuando los lípidos, proteínas y polisacáridos son ingeridos con los alimentos, con la finalidad de convertirlas en moléculas más pequeñas y que las células puedan usarlas, que se produce en tres etapas que se detallan a continuación:

- **Primera etapa**

Ocurre principalmente en el intestino, en donde los polímeros grandes se rompen en subunidades monoméricas.

- **Segunda etapa**

Ocurre en el citoplasma cuando las moléculas más pequeñas generadas en la primera etapa se siguen degradando generándose Piruvato, que ingresa a las mitocondrias y son convertidos en grupos de Acetil CoA, este compuesto

también es generado a partir de ácidos grasos.

- Tercera etapa

El grupo Acetílico de la Acetil CoA es degradado a completamente a CO₂ y H₂O, siendo en esta última etapa que se genera grandes cantidades de ATP. (19)

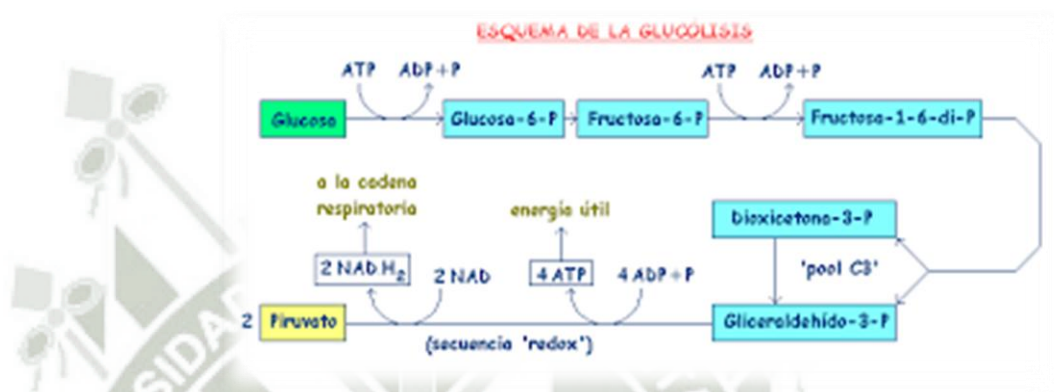


Figura 21, Esquema de la glucólisis. (19)

FUENTE: Recuperado de "Glucólisis" [En línea] de:

<http://es.slideshare.net/gjss8/gluco genesis-y-gluco genolisis>.

1.5. EL ENDOTELIO VASCULAR

1.5.1. Introducción

El endotelio vascular, es un órgano estructuralmente simple y funcionalmente complejo, está constituido por una capa unicelular la cual cubre la superficie interna de los vasos sanguíneos y conforma la pared de los capilares, lejos de ser una barrera mecánica entre la sangre y los tejidos, es un órgano activamente comprometido en una gran variedad de procesos fisiológicos y patológicos, debido a su ubicación estratégica detecta cambios en la fuerza hemodinámicas que actúan contra la pared vascular, así como señales químicas transportadas por la sangre y responde a ellas liberando sustancias vasoactivas.(20)

Agentes Antihemostáticos	Trombomodulina, Proteína C, Activador tisular de plasminógeno, Prostaglandinas, Óxido Nítrico.
Hemostáticos	Factor V, Factor III, Inhibidor del plasminógeno, Tromboxano A2.
Vasodilatadores	Óxido Nítrico, Prostaglandinas, EDHF
Vasoconstrictores	Endotelina, Angiotensina II, Tromboxano A2, Anión superóxido.
Promotores del Crecimiento	Angiotensina II, Endotelina, PDGF, Anión Superóxido
Inhibidores del Crecimiento	Óxido Nítrico, Heparansulfatos, TGF- β

Figura 22, Sustancias liberadas por el Endotelio en la Homeostásis Celular (20). FUENTE:

Recuperado de "Endotelio Vascular e Hipertensión-2010"-PDF [En línea] de:

http://www.fac.org.ar/1/publicaciones/libros/tratfac/hta_01/endotelio2.pdf.

Es decir las diversas funciones que cumple el endotelio, no son más el resultado del balance de los diversos principios activos que produce, resultado de este balance el endotelio muestra disminución del tono vascular, debido esto a que se relaja el músculo liso de la pared del vaso, inhibe la adhesión y agregación plaquetaria, deprime la activación del sistema de coagulación, estimula la fibrinólisis, disminuye la permeabilidad capilar e inhibe la migración de neutrófilos y macrófagos generados durante una inflamación. (21)



Figura23, Historia y evolución del estudio del endotelio. (23)

FUENTE: Recuperado de "Disfunción endotelial marcadores de aterosclerosis – 2009" [En línea] de: <https://www.es.slideshare.net>.

1.5.2. Fisiología del endotelio

El conocimiento del endotelio ha tenido una transformación importante en los últimos años, cambiándose el concepto de simples células tapizadoras a llegar a ser clasificada como un nuevo órgano complejo que constituye un eslabón fundamental en la cadena de vida. (20)

En un corte transversal se observa que los vasos sanguíneos están formados por tres capas que son las siguientes:

- **Adventicia:**

Lámina elástica externa, formada mayoritariamente por fibras de colágeno formadas longitudinalmente que dejan orificios dando una apariencia fenestrada.

- **Media:**

Capa media, está compuesta por células musculares lisas dispuestas de forma concéntrica inmersas en una matriz de tejido conectivo, responde a estímulos de sustancias bioquímicas generadas para la deformación mecánica, determinando su comportamiento visco-elástico de la arteria frente a los cambios de presión.

- **Intima:**

Llamada también endotelio o capa endotelial está formada por células poligonales o fusiformes dotados de núcleos redondeados, esta capa es altamente especializada y descansa sobre una lámina basal por debajo de la cual hay tejido fibrocolágeno con propiedades fagocitarias.

El endotelio libera factores humorales que controlan la relajación y contracción, de esta forma se controla el tono vascular adecuado

conservando la presión arterial en valores fisiológicos (**125/85 mm/hg**) que permitan la perfusión tisular (**otorgar oxígeno de manera adecuada y suficiente a un tejido**).

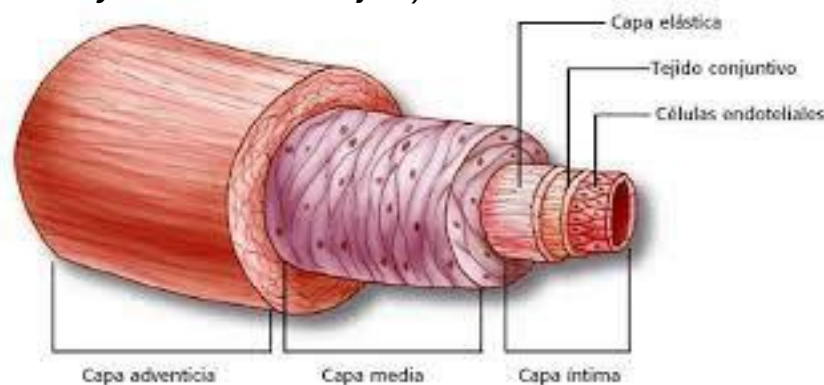


Figura 24, Fisiología del Endotelio corte transversal. (20)

FUENTE: Recuperado de “Endotelio Vascular e Hipertensión” [En línea] de: <https://www.fac.org.ar>

1.5.3. Célula Endotelial

La célula endotelial es un tipo de célula aplanada que recubre el interior de los vasos sanguíneos y sobre todo de los capilares formando parte de su pared, cumplen una importante función en la homeostasis en las que figuran las siguientes: (21)

- Forman una superficie lisa que facilita el flujo laminar de la sangre y permite la adherencia de las células sanguíneas.
- Regula la angiogénesis y la regulación vascular.
- Contribuye a la formación y mantenimiento de la matriz extracelular.
- Sintetiza y degrada diversas sustancias.

1.5.4. Características de las células endoteliales

La célula endotelial se forma en la médula ósea entran luego a la circulación y colonizan el interior de los vasos sanguíneos.

Tapizándolo, tiene una configuración alargada y poligonal con su eje con dirección al flujo sanguíneo, posee una longitud aproximada de 25 a 50 micrómetros y un ancho entre 10 a 15 micrómetros; reposa sobre una membrana basal que es sintetizada por la misma célula endotelial. Está conformado por un núcleo paralelo, filamentos contráctiles, pocas mitocondrias, retículo endoplasmático liso y rugoso con numerosos orificios pequeños y numerosos vesículas pinocíticas y endocíticas. (21-22)

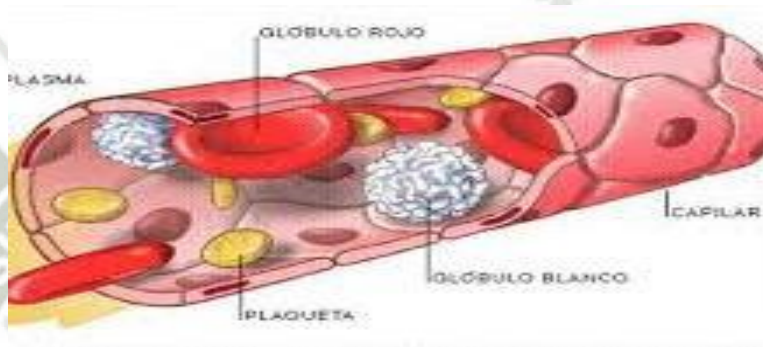


Figura 25, Característica de la célula endotelial. (25)

FUENTE: Recuperado de "Fisiología del Endotelio-2013" [En línea] de: <https://es.slideshare.net>.

1.5.5. Funciones del endotelio

Es importante destacar el papel del endotelio como secretor de óxido nítrico (NO), potente vasodilatador que en disfunciones endoteliales puede disminuir, lo que significa un factor de riesgo para la circulación de riesgo coronario junto a las dislipidemias (**infarto de miocardio**), es decir el endotelio mantiene el tono vascular dilatado en la proporción exacta, mediante la síntesis y liberación de prostaglandinas, óxido nítrico y endotelina; para conservar así la presión arterial en valores normales y permitir la perfusión tisular. Por lo que constituyen una barrera selectiva que controla la permeabilidad y el transporte de solutos y macromoléculas que ayudan a metabolizar diversos factores generados localmente o aportados por la corriente sanguínea. (23)

Interviene en la acción antiagregante plaquetario debido al efecto del NO, que produce prostaciclina antiagregante, y una acción fibrinolítica relacionada con la síntesis y secreción del activador del plasminógeno tisular. (24) Además normalmente proporciona una superficie no trombogénica, ya que contiene, por ejemplo, sulfato de heparán que actúa como un cofactor para la activación de la antitrombina, una proteasa que inactiva varios factores en la cascada de coagulación y finalmente ayuda en la formación de nuevos vasos sanguíneos y se involucra en la vasoconstricción y la vasodilatación, y por lo tanto en el control de la presión arterial.



Figura 26, Funciones de las células endoteliales. (27)

FUENTE: Recuperado de "Endotelio Vascular- 2013" [En línea] de: <https://www.es.elideshare.net>.

Por último el endotelio participa en la regulación de la proliferación de las células musculares lisas subyacentes y en el control de la adhesión y extravasación de neutrófilos, monocitos y linfocitos, todas estas propiedades son debidas a la capacidad que tiene el endotelio de actuar como sensor para los estímulos humorales y hemodinámicas.

1.5.6. Sustancias producidas por el Endotelio Vascular

Dentro de las sustancias producidas por el endotelio tenemos a las siguientes:

1.5.6.1. Sustancias vasodilatadoras

- Sustancias dependientes del endotelio

Óxido nítrico, histamina, Bradicinina, Prostaciclina PG12, factor hiperpolarizante del endotelio, corticotropina y sustancia P.

- Sustancias dependientes de la producción de óxido nítrico

Acetilcolina, bradisinina, histamina, noradrenalina, ATP y sus derivados sobre todo el ADP.

1.5.6.2. Sustancias vasoconstrictoras

Endotelina, angiotensina II, prostaglandinas, tromboxano A2.

1.5.7. Principales Sustancias Vasodilatadoras

1.5.7.1. Óxido Nítrico

Furchgott y Zawadski descubrieron en 1980 el papel fundamental del endotelio como regulador de la vasodilatación, al describir el fenómeno de la relajación del músculo liso dependiente del endotelio, ellos demostraron que anillos arteriales previamente contracturados se podrían relajar en respuesta a la Acetilcolina solo si las células endoteliales estaban intactas. Cuando se eliminó el endotelio se veía suprimida la vasorelajación producida por Acetilcolina, lo cual sugería que está mediada por alguna sustancia derivada del endotelio al cual se denominó EDRF (*factor de relajación derivado del endotelio*).

No fue hasta 1987 en que se demostró que el EDRF era el Óxido Nítrico, esto gracias a las investigaciones realizadas por

Moncada e Ignaro; posteriormente en 1992 es definida por la revista Science como “**Molécula del año**”. (28)

1.5.7.1.1. Descripción del Óxido Nítrico

El Óxido Nítrico es un radical libre que se presenta como gas, tiene una vida media corta, que dura de 5 a 40 segundos.

Fue descrito como neurotransmisor, altamente difusible al músculo liso vecino y activo a la enzima Guanilato Ciclasa soluble, por lo que aumenta los niveles celulares del segundo mensajero que es el GMPc, el cual a su vez relaja a la célula muscular por disminuir el calcio citosólico necesario para la interacción de las proteínas contráctiles. (30)

La mayoría de los estímulos vasodilatadores, como el flujo sanguíneo y numerosos agonistas receptores de la membrana acoplados a la proteína G, relajan indirectamente al músculo liso a través de la liberación de NO endotelial. (31).

Es secretado tanto fuera como dentro de la luz del vaso, su liberación se realiza por acción de la trombina, luego al desencadenarse la cascada de la coagulación, las células endoteliales liberan Óxido Nítrico ocasionando vasodilatación e inhibición plaquetaria lo que le confiere al endotelio su características tromborresistentes. (30)

1.5.7.1.2. Funciones del Óxido Nítrico

- Acción moduladora del tono muscular

El sistema nervioso autónomo controla la liberación de óxido nítrico a nivel de los vasos, los nervios parasimpáticos que terminan en las arterias cerebrales,

retinianas, pulmonares, renales y gastrointestinales contienen NOS que al liberar NO difunden hacia las células del músculo vascular liso, originando vasodilatación, regulando a este nivel el óxido nítrico la presión y el flujo sanguíneo. (31)

- **Neurotransmisión central y periférica**

La neurona pre sináptica libera óxido nítrico, en base a la liberación de mecanismos químicos que activan la NOS, y luego posteriormente difunde a la neurona post sináptica, donde se une a la GMPc. (31)

- **Mecanismo inmunológico**

En algunas situaciones la NOSI de los macrófagos produce grandes cantidades de óxido nítrico que inhibe la producción de ATP y ADN, por lo tanto inhibe la proliferación patógena de bacterias, virus y hongos. (31)

1.5.7.1.3. Isoformas del Óxido Nítrico Sintetasa

Se han reconocidos tres tipos de isoformas de NOS, dos de los cuales son las denominadas constitutivas, que siempre se sintetizan a una rapidez constante e independiente de la demanda fisiológica y la inducible sintetizada lentamente cuando están presente otros mensajeros celulares. (31)

- **Óxido Nítrico Sintetasa Neuronal o tipo I (n-NOS)**

Isoforma constitutiva que se encuentra presente en las células neuronales, glándulas suprarrenales, plaquetas, islotes pancreáticos y mácula densa del riñón.

- Óxido Nítrico Sintetasa Endotelial o tipo III (e-NOS)

Isoforma constitutiva que se encuentra en las células endoteliales. Específicamente en las caveolas (*sitios especializados de la membrana donde se encuentran receptores, canales y ciertas enzimas*), donde se separa de la Caveolina (*enzima inactiva*) para la producción de Óxido Nítrico.

- Óxido Nítrico Sintetasa Inducible o tipo II (i-NOS)

Isoforma inducible que se encuentra en los macrófagos en respuesta a las citoquinas y células del músculo liso vascular. (31)

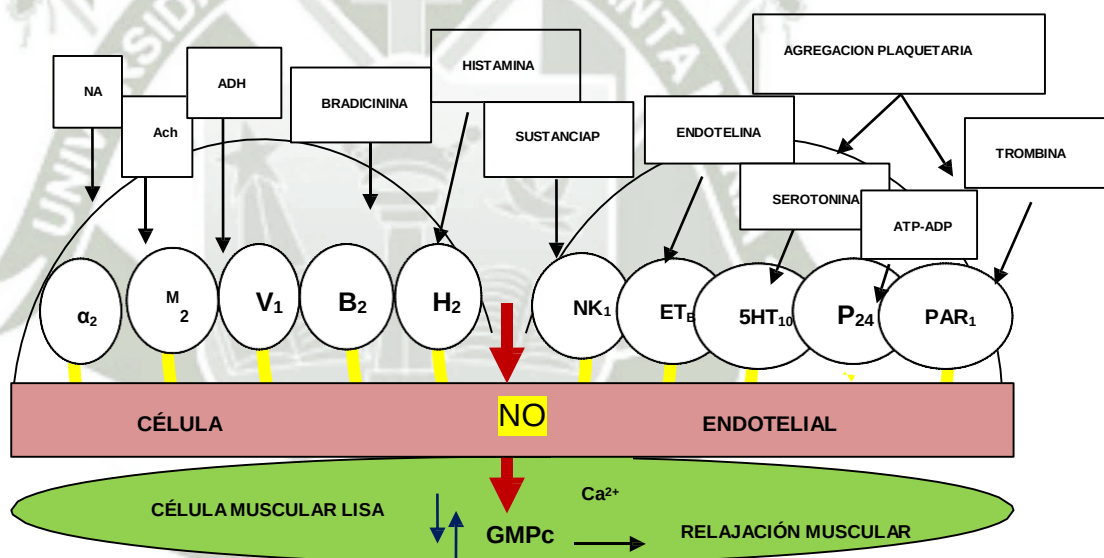


Figura 27, Estímulos y Receptores específicos que promueven la síntesis y liberación de NO.

FUENTE: Recuperado de "Endotelio Vascular e Hipertensión-2010" [En línea] de:

<https://www.fac.org.ar/1/publicaciones/libros/tratfac/hta-01/endotelio2-pdf>.

1.5.7.1.4. Síntesis del óxido nítrico

La NOS produce NO catalizando la oxidación de cinco electrones del nitrógeno guanidina del aminoácido L-Arginina, en donde se produce primero la oxidación de este compuesto a L-Citrulina, esto se puede dar a través de por

tres diferentes isoformas de la NO Sintetasa (NOS I o neuronal, NOS II o inducible y NOS III o endotelial), siendo la isoforma endotelial la responsable principal de la síntesis de NO a nivel de las células endoteliales. (31)

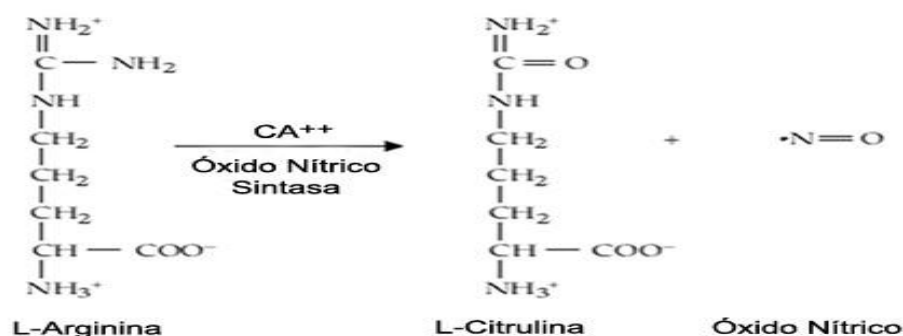


Figura28, Formación de Óxido Nítrico. (28)

FUENTE: Recuperado [En línea] de: <https://www.caibro.ucv.pe>

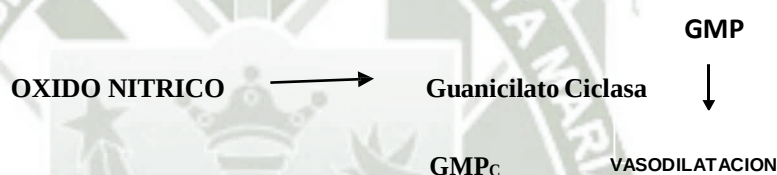


Figura 29, Acción del NO sobre el musculo liso vascular. (31)

FUENTE: Recuperado de "Acciones del Óxido Nítrico – 2011" [En línea] de: <https://www.monografias.com/trabajos16/oxido-nitrico/oxido-nitrico.shtml>

1.5.7.1.5. Sustancias vasodilatadoras dependientes del Óxido Nítrico

Dentro de la sustancias dilatadoras dependientes del NO tenemos a la Acetilcolina, Histamina, Bradicinina, ATP y sus derivados ADP, sustancias que actúan a nivel de los receptores muscarínicos M-1, en donde el ADP y el roce tangencial de la sangre sobre el endotelio, son factores que están íntimamente relacionados aunque en menor potencia con la vasodilatación mediada por el endotelio.

Estas sustancias cobran importancia en estados patológicos cuando existe hiperproducción y magnificación de la vasodilatación secundaria. (30)

1.5.7.2. Prostaciclina (PGI₂)

Es una prostaglandina que es producida por el endotelio, presenta una acción vasodilatadora que también inhibe la agregación plaquetaria mediante la activación de la Adenilciclasa, causando la relajación del músculo liso.

Inhibe los procesos que facilitan la agregación y adhesión leucocitaria de los glóbulos blancos para que no interactúen con las paredes del endotelio y se queden pegadas en él. (25)

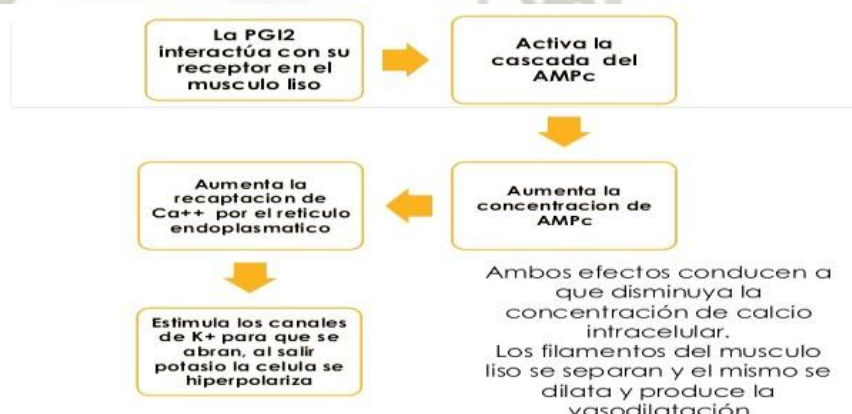


Figura 30, Acción de la Prostaciclina PGI₂. (25)

FUENTE: Recuperado de "Fisiología del Endotelio – Universidad Salvadoreña Alberto Morferrer - 2013" [En línea] de: <https://www.es.slidershare.net>

1.5.8. Principales sustancias vasoconstrictoras del Endotelio

Dentro de las sustancias vasoconstrictoras del endotelio tenemos a la Endotelina, Tromboxano A₂ y Angiotensina II. (25)

1.5.8.1. Endotelina

Familia de péptidos constituida por 21 aminoácidos con dos puentes disulfuro, que presenta una potente acción vasoconstrictora sobre el endotelio vascular, existen tres tipos Endotelina-1 (*sintetizada fundamentalmente en las células endoteliales y células del músculo liso vascular, su función es fundamentalmente vasoconstrictora*) Endotelina-2 (*se produce en los riñones e intestino, placenta útero y miocardio, su función aún no está clara*) y la Endotelina-3 (*se produce en el cerebro, vías digestivas y en menor proporción en el riñón y pulmones, presenta un menor efecto vasoconstrictor*). (25)

1.5.8.1.1. Tipos de receptores de la endotelina

- Receptor A (ET-A)

Se encuentra en las células del músculo liso vascular, actúa mediante la activación de la fosfolipasa C, que induce el incremento de Inocitol difosfato y calcio intracelular.

- Receptor B (ET-B)

Se encuentra en las células endoteliales, riñón, hígado y útero, es un mediador de la relajación vascular por la producción de Óxido Nítrico y Prostaciclina.

- Receptor C (ET-C)

Se encuentra en las células endoteliales, no se conoce bien su función pero tiene tres veces más afinidad que la ET-3 que a ET-1.

1.5.8.1.2. Efectos de la Endotelina Sobre los Vasos sanguíneos

Es una potente sustancia vasoconstrictora, estimula la

proliferación celular, estimula la producción óxido nítrico y prostaglandinas vía receptores ET-B y ayuda en la remodelación celular y depósito de colágeno.

1.6. Disfunción Endotelial

El término disfunción endotelial, indica que en condiciones basales o luego de una estimulación el endotelio no cumple apropiadamente sus funciones, es decir se produce por el desequilibrio entre agentes vasoconstrictores y vasodilatadores con predominio crónico de los agentes vasoconstrictores, lo cual precede a las alteraciones de estructura celular indicando un papel protector del endotelio intacto; en donde se necesita romper el endotelio sano para que se desarrolle la placa aterosclerótica.

Pero existe algunos vasos particularmente propensos a desarrollar disfunción endotelial y aterosclerosis tales como las arterias coronarias epicárdicas, la aorta y la arteria ilíaca), mientras que otros parecen estar protegidos como *la arteria mamaria y arteria braquial*. (33).

1.6.1. Mecanismo de producción de la disfunción endotelial

- Hipercolesteronemia

Se produce por lesión en el endotelio y acumulación de LDL, en donde el aumento de la concentración de LDL amplifica el efecto de la Angiotensina II, al aumentar la expresión de sus receptores estimula la secreción de NADH Y NADHP que a su vez produce grandes concentraciones de anión superóxido, la LDL oxidada por el anión superóxido entonces inhibe a la NO Sintetasa por lo que no se genera NO, produciendo aumento en la expresión de la moléculas de adhesión, inflamación vascular y ruptura de la placa ya formada. (33)

- Hipertensión

La presión sanguínea elevada está asociada con una reducción en su relajación del endotelio dependiente, en donde las células musculares lisas de pacientes con hipertensión producen más anión superóxido en respuesta a la Angiotensina II que las células de sujetos normotensos, este aumento unido a la reducción de producción de NO lleva como consecuencia una disminución en la actividad vasorelajante del endotelio. (33)

- Diabetes mellitus

Niveles elevados de glucosa causan disfunción endotelial produciendo daño a nivel cardiovascular, debido a que se ve afectada la producción de Óxido Nítrico en concentraciones apropiadas, por la presencia de radicales libre en las células endoteliales, lo que es conocido también como estrés oxidativo. (33).

- Tabaquismo

El humo proveniente del tabaco, produce reducción en la producción dependiente del Óxido Nítrico, lo que genera vasoconstricción, agregación plaquetaria y adhesión creciente de monocitos.

En resumen se dirá que el motivo por el cual se produce este desequilibrio es porque se genera estrés oxidativo y aumento en la actividad de la Angiotensina II, ya que existe una menor biodisponibilidad de NO, causada por una disminución en su síntesis o un aumento de la velocidad con que se degrada, constituye el fenómeno más temprano y la característica más importante en la disfunción endotelial. (33)

1.6.2. Naturaleza de la Disfunción Endotelial en la Diabetes Mellitus

La pared arterial es un factor clave en la patogenia de la diabetes, en la última década se han conocido muchos de los factores implicados en la disfunción endotelial y en el proceso inflamatorio de la pared arterial; ahora se ha integrado esta información en los mecanismos fisiopatológicos implicados en la cardiopatía diabética.

De la misma manera, se afirma que la sobredosis de glucosa circulante incrementa la sensibilidad de los vasos sanguíneos a la contracción lisa, posiblemente por un exceso de agentes vasoconstrictores y un déficit del tono vasodilatador, además la vasoconstricción favorece un aumento de la resistencia total periférica, que se traduce en un incremento de la presión sanguínea. Dado que la Acetilcolina ha sido ampliamente utilizada como vasodilatador endotelial dependiente, es importante reconocer que su efecto difiere dependiendo del lecho vascular.

En arterias coronarias epicárdicas, la Acetilcolina produce la respuesta vasodilatadora cuando el endotelio está intacta; sin embargo, se trastorna en una vasoconstricción paradójica en pacientes con enfermedad arterial coronaria aterosclerótica (CAD).

Cuando la presión sanguínea está ampliamente regulada por la resistencia vascular (microcirculación), una determinación apropiada de la disfunción endotelial en la hipertensión involucra la determinación de cambios en el flujo sanguíneo y en la resistencia vascular, mientras que los cambios en el diámetro de arterias coronarias y otros conductos arteriales reflejan la disfunción endotelial relacionada a aterosclerosis. Por lo tanto, si bien una respuesta vasodilatadora perjudicial con Acetilcolina indica la presencia de disfunción endotelial, ello no indica la naturaleza de la

disfunción. La liberación basal de NO, es crítica para el mantenimiento del tono muscular, por ello, cuando la síntesis de NO in vivo es bloqueada por los inhibidores de NO Sintetasa, sobreviene una significativa vasoconstricción. (34)

1.6.3. Diagnóstico de la Disfunción Endotelial

El diagnóstico se podrá realizar mediante las siguientes pruebas: (34-35)

- Eco – doppler vascular.
- Test de la Acetilcolina.
- Proteína C reactiva ultrasensible.
- Homocisteína.
- Reacción vasomotora al esfuerzo.

1.7. ESTRÉS OXIDATIVO:

El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno (**EROs**) y la capacidad de un sistema biológico de decodificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante.

Todas las formas de vida mantienen un entorno reductor dentro de sus células, este entorno reductor es preservado por las enzimas que mantienen el estado reducido a través de un constante aporte de energía metabólica, por lo que desbalances en este estado normal redox pueden causar efectos tóxicos a través de la producción de peróxidos y radicales libres que dañan a todos los componentes de la célula, incluyendo las proteínas, los lípidos y el ADN.

En el ser humano el estrés oxidativo está involucrado con una serie de enfermedades como la aterosclerosis, enfermedad de Parkinson, encefalopatía miálgica, sensibilidad química múltiple, periodontitis, cáncer, disfunción endotelial y Alzheimer.

Sin embargo, las especies reactivas de oxígeno pueden resultar beneficiosas ya que son utilizadas por el sistema inmunitario como un medio para atacar y matar a los patógenos, siendo también utilizadas en la señalización celular, en esta situación de estrés oxidativo es que se manifiestan las lesiones que producen los radicales libres, estos reaccionan químicamente con lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN al interior de las células, y con componentes de la matriz extracelular por lo que pueden desencadenar un daño irreversible que, si es muy extenso, puede llevar a la muerte celular. (37)

1.7.1. Mecanismo de producción del Estrés Oxidativo

Cada vez que respiramos 20% de lo que inhalamos es oxígeno, que como sabemos es una molécula esencial que pasa de los pulmones a los glóbulos rojos de la sangre, y de ahí se transporta el oxígeno a cada célula de nuestro cuerpo, proporcionando vitalidad a nuestras células al crear energía necesaria para que estas funcionen adecuadamente, es decir la oxidación es un proceso fundamental sin el cual no podríamos vivir, este mismo proceso causa que una manzana partida y expuesta al aire se ponga café por el proceso de oxidación.

El proceso de oxidación crea radicales libres en nuestras células, que son átomos con un número impar de electrones o con un electrón libre, grandes proporciones de radicales libres causan daño celular por un proceso de estrés oxidativo, lo cual se verá revertido

por el consumo de alimentos ricos en antioxidantes los que inactivarán a los radicales libres del oxígeno y reducirán por ende su efecto dañino. (37)

1.7.2. Estrés Oxidativo y Diabetes Mellitus

El estrés oxidativo según estudios experimentales y clínicos juega un papel muy importante en la patogénesis de ambos tipos de diabetes, esto debido a que se generan abundantes radicales libres esto debido a los siguientes factores: (38)

- Oxidación de la glucosa (vía de la glucólisis o glicólisis donde el objetivo de la oxidación de la glucosa es la formación de energía en la célula).
- Glicación no enzimática de las proteínas.

1.8. RADICALES LIBRES

1.8.1. Introducción

En bioquímica se considera oxidación a todo proceso en el que ocurre pérdida de electrones, captación de oxígeno o una cesión de hidrógeno (deshidrogenación) y reducción a aquel otro en el cual se captan electrones o se pierden oxígenos.

Todo proceso de oxidación entonces, va siempre acompañado de otro de reducción, es decir en nuestro cuerpo ocurren procesos de óxido-reducción o reacciones redox entre pares conjugados; por lo que decimos que, en la naturaleza casi todo es oxidado por el oxígeno: las grasas se vuelven rancias, la goma pierde elasticidad, el papel se torna de color amarillo, y todo ser vivo envejece.

Además estas reacciones de óxido-reducción son muy importantes en bioquímica, puesto que los seres vivos obtienen la mayor parte de su energía libre a partir de ellas: en la fotosíntesis la energía solar impulsa la reducción del CO_2 y la oxidación del H_2O formando carbohidratos y O_2 y en el metabolismo aeróbico, realizado por los células eucariotas y muchos procariotas, tiene lugar un proceso inverso a la fotosíntesis, que permite almacenar la energía libre producida en la oxidación de los carbohidratos y de otros compuestos orgánicos, en forma de ATP. (36-37)

1.8.2. El oxígeno y los Radicales Libres

El oxígeno, el tercer elemento más común en el universo después del Helio y el Nitrógeno, es una molécula sumamente reactiva que al unirse con otros compuestos forma óxidos, por lo tanto el oxígeno que es indispensable para la vida, también puede matarnos lentamente, esto debido a que es un gas reactivo muy explosivo y corrosivo, provocando oxidación hasta en el elemento más duro del planeta, el acero y, si es capaz de hacer esto a un metal qué no podría hacer a nuestro cuerpo?. Pero el problema es que no sólo el oxígeno es corrosivo sino también sus derivados producto de las reacciones químicas de oxidación. (40-41-42)

Como sabemos la respiración no es un proceso exclusivo de los pulmones, este proceso en realidad se genera dentro de nuestras células, exactamente dentro de la mitocondria, es aquí donde el oxígeno se une con el carbono y el hidrógeno formando moléculas de agua y dióxido de carbono que se elimina durante la expiración.

Todas las células de nuestro organismo contienen mitocondrias, que son organelos cuya función fundamental es generar energía bajo la forma de ATP, cada célula es capaz de tener entre 200 a más de

2000 mitocondrias dependiendo de la función que desempeña la célula, por lo que nada en la célula funciona sin la mitocondria, es decir, mientras más ATP se genere en la mitocondria mejor funciona la célula; por ejemplo si esa célula pertenece a la piel, se producirá más colágeno el cual inhibe la formación de arrugas.

Ahora bien cuando el oxígeno ingresa a la célula para generar esta energía, genera a su vez otras sustancias tóxicas llamados radicales libres, que si no son controladas o neutralizados atacan a las moléculas vecinas de la mitocondria, al ADN del núcleo celular y a los lípidos de la membrana, lo que genera finalmente la muerte celular. Es decir que este oxígeno que es imprescindible para la vida, puede ser también fuente de enfermedad a través de una producción incontrolada de radicales libres de oxígeno (RLO) que dañan las macromoléculas como a los lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ácidos nucleicos y alteran los procesos celulares (**funcionalidad de las membranas, producción de enzimas, respiración celular, inducción génica, etc.**).

Por lo que un exceso de RL, rompe el equilibrio produciendo el llamado estrés oxidativo, esto se produce durante las reacciones metabólicas, mientras las células del organismo transforman los alimentos en energía especialmente en situaciones de hiperoxia, ejercicio intenso e isquemia y también por exposición a determinados agentes externos como las radiaciones ionizantes o luz ultravioleta, polución ambiental, humo del tabaco, los alimentos con hormonas, pesticidas y preservantes, el aire contaminado, etc.

Los radicales libres tienen una configuración electrónica de capas abiertas por lo que llevan al menos un electrón desaparejado que es muy susceptible de crear un enlace con otro átomo o molécula. (40-41-42)

1.8.3. Definición de los Radicales Libres

Son especies químicas capaces de existir independientemente con un vida media muy corta y que cuentan en su composición química, con un electrón que no está aparejado el cual se encuentra en capacidad de aparearse, por lo que son altamente reactivos e inestables. (39-40) Es decir que un radical libre es aquel átomo o molécula que posee uno o más electrones no apareados girando alrededor de su órbita externa, esta configuración espacial lo hace químicamente inestable, ya que este electrón impar o solitario **“Busca desesperadamente una pareja”** para salir de su desequilibrio atómico, esto a través de la captura o donación de electrones; actuando como Agentes Oxidantes o como Agentes Reductores, con la finalidad de lograr su objetivo. Cuando sustrae electrones a cualquier molécula vecina, genera la oxidación de dicha molécula, y esta molécula a la vez se convierte también en radical libre y se encontrará ávido por capturar un electrón para estabilizar su estructura molecular, por ende se produce una reacción en cadena que daña las células y produce el envejecimiento y muchas enfermedades. (40-41-42)



Figura 31, Diagrama de la Formación de Radicales Libres. (40)

FUENTE: Recuperado “Radical (química)-2010” [En línea] de: www.es.wikipedia.org.



Figura 32, Estructura de los Radicales Libres y Acción de los Antioxidante. (44)

FUENTE: Recuperada de “Envejecimiento Celular y Radicales Libres- 1999” [En línea] de: www.consultamedicaholistica.com.

1.8.4. Acción de los Radicales Libres en el organismo

- Los RL intervienen en muchos procesos normales del organismo como el metabolismo de los alimentos, la respiración, el ejercicio, polución ambiental, tabaco, radiaciones, aditivos químicos de los alimentos procesados, medicamentos, etc.
- No todos los radicales libres son “malos”, las células del sistema inmune crean radicales libres para matar bacterias y virus, pero si no hay control (*ejercido por los antioxidantes*) las células sanas pueden ser dañadas.
- Así mismo intervienen tomando electrones de las proteínas y lípidos de la membrana celular, la cual al ser dañada no puede cumplir con sus funciones como el intercambio de nutrientes y la eliminación de las sustancias de desecho, haciendo entonces imposible el proceso de regeneración y reproducción celular.
- En el interior de las células son capaces de atacar al ADN que es la matriz para la replicación celular, impidiendo su reproducción.
- Contribuyen en el proceso de envejecimiento cuando toman el electrón que les falta de las células del tejido colágeno de la piel, dando como resultado pérdida en la elasticidad, resequedad y por ende se forma arrugas.
- Contribuyen al crecimiento anormal de las células, pues pierde la capacidad de reconocer a las células vecinas, dando como resultado el crecimiento sin control de las células que originará finalmente tumores benignos o malignos. (39-41)

1.8.5. Principales fuentes de Radicales Libres en el organismo

1.8.5.1. Respiración Pulmonar

La principal fuente de origen de los radicales libres es la respiración, ya que entre el 1 al 3 % del oxígeno consumido se transforma en radicales libres, esto se puede deber a la presencia de contaminantes en el medio ambiente moderno, como el humo de los carros, industrias, tabaco, etc.

Los radicales libres provenientes del oxígeno colectivamente son llamados Especies Reactivas de Oxígeno o ROS. (43)

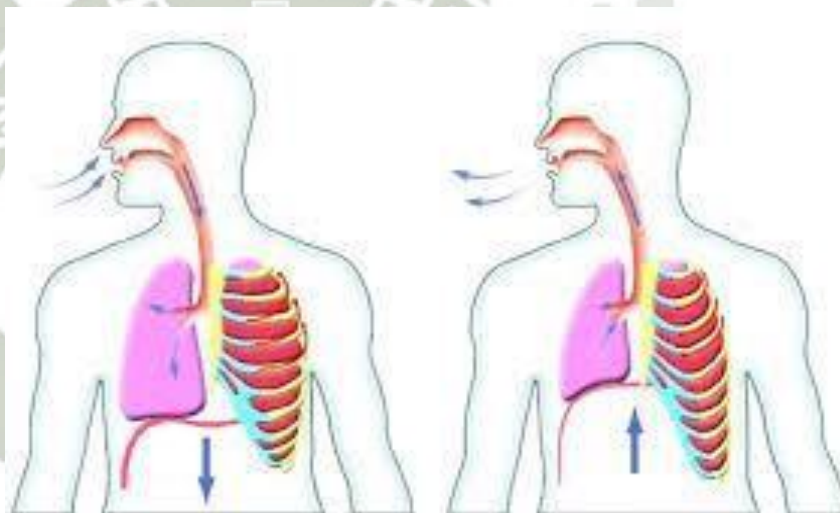


Figura 33, La respiración como fuente de Radicales Libres. (43).

FUENTE: Recuperada de "Estrés Oxidativo- Enero 2015" [En línea] de: www.es.slideshare.net.

1.8.5.2. Respiración Mitocondrial

La mitocondria constituye la principal fuentes donde se genera radicales libres, mediante el proceso de fosforilación oxidativa, en donde el oxígeno actúa como aceptor de electrones, con producción de agua, en este proceso se forman moléculas con diferente grado de oxidación. (39-43).

Reducción completa del oxígeno



Figura 34, Reacciones de Reducción completa del Oxígeno. (43)

FUENTE: Recuperada de "Estrés Oxidativo- Enero 2015" [En línea] de: www.es.slideshare.net.

Especies parcialmente reducida

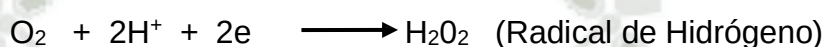


Figura 35, Formación de Especies Reactivas de Oxígeno. (43)

FUENTE: Recuperada de "Estrés Oxidativo- Enero 2015" [En línea] de: www.es.slideshare.net.

- Transporte electrónico en la cadena mitocondrial

Probablemente sea esta la mayor fuente de producción de RLO en la célula, esta circunstancia se debe a la fuga de electrones que tiene lugar durante el tránsito de los mismos por los componentes de la cadena de transporte electrónico en la respiración aerobia (Balaban et al., 2005), en donde los electrones "fugados" van a producir una reducción parcial del O_2 , y como consecuencia, se generan radicales superóxido.

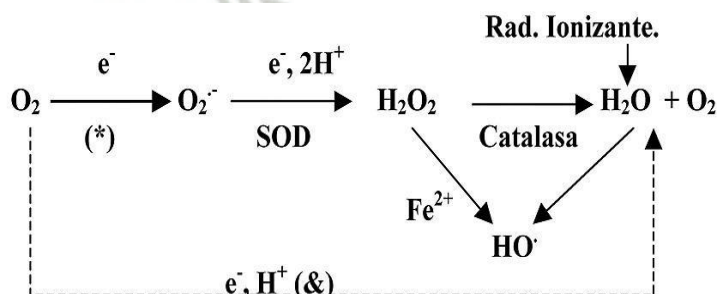


Figura36, Producción de radical hidroxilo por acción de la Catalasa. (39)

FUENTE: Recuperada de "Daño Oxidativo y Envejecimiento- 2011" [En línea] de:

<https://www.ocw-unican.es>

Se piensa que a tensiones de oxígeno normales, el porcentaje de electrones que se “escapan” de la cadena de transporte es de un 0,2-1% pudiendo llegar hasta el 18% en atmósferas de 85% de O_2 (Halliwell y Gutteridge, 1999).

Por ello resulta importante el mantenimiento de los componentes de la cadena de transporte en un funcionamiento óptimo, ya que de lo contrario se podría elevar el porcentaje de moléculas de superóxido formadas en el tránsito electrónico, generándose entonces una situación de “**estrés oxidativo**”, aspecto a tener en cuenta si consideramos la gran cantidad de radicales que se pueden formar en la mitocondria a lo largo del día.

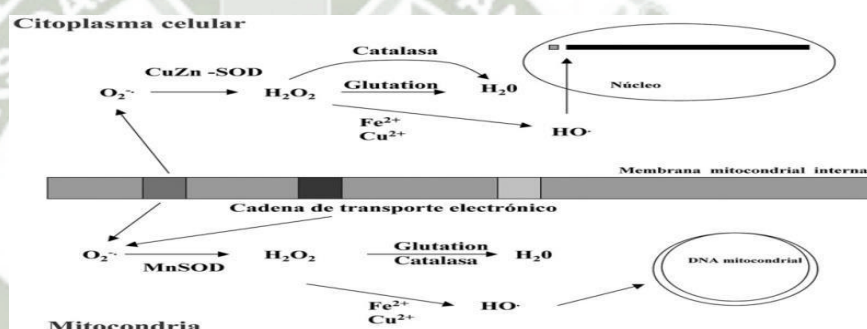


Figura 37, Producción de radical hidroxilo a través la cadena mitocondrial. (39)

FUENTE: Recuperada de “Daño Oxidativo y Envejecimiento- 2011” [En línea] de:

<https://www.ocw-unican.es>.

Teniendo en cuenta lo arriba expuesto no resulta extraño que se asocie la restricción calórica con la disminución de radicales libres en la mitocondria, y con ello una menor exposición de la célula al estrés oxidativo (Sohal y Weindruch, 1996), no obstante es pronto para dar por segura tal relación ya que todavía se desconocen los mecanismos precisos que relacionan la limitación calórica en la dieta con el envejecimiento (Guarente y Picard, 2005).

Es decir que la presencia casi permanente de radical superóxido en seres de vida aerobia hace que todos ellos tengan en sus células un tipo de enzimas dedicadas a “desactivar” ese radical, estas enzimas aparecen tanto en procariotas como en eucariotas. (39-43-42).

1.8.5.3. Peroxisomas

Son organelos citoplasmáticos en forma de vesículas que contienen en su interior enzimas como Catalasas y Oxidasas, cuya función fundamental es el de detoxificar a la célula.

Dentro de su estructura contienen enzimas que oxidan aminoácidos, ácido úrico y otros sustratos utilizando oxígeno molecular con formación de agua oxigenada y formación de una gracias a la acción de la Catalasa. (39-43-42)

1.8.5.4. Leucocitos Polimorfonucleares

Como se ha podido comprobar en los casos anteriores, los radicales de oxígeno se generaban como subproductos no deseados de ciertos procesos metabólicos, pero algunas células producen estas sustancias con fines específicos, tal es el caso de la producción de radicales superóxido por las células fagocíticas (macrófagos, polimorfonucleares).

Este tipo de células tienen, entre otras, una misión defensiva, utilizando para ello toda una serie de mecanismos agresivos contra agentes extraños, uno de estos consiste en generar radical superóxido a partir del O₂ gracias a un complejo enzimático ubicado en la membranas (**NADPH oxidasa**) que toma electrones del NADPH y los transfiere al oxígeno, este proceso se da lugar en los procesos inflamatorios. (39-43-42)



Figura 38, Producción de Radicales Superóxido por acción de la NADPH. (39)

FUENTE: Recuperada de "Daño Oxidativo y Envejecimiento- 2011" [En línea] de:

<https://www.ocw-unican.es>

Dada la baja toxicidad que el radical superóxido tiene en el caso de los microorganismos, se piensa que lo que en realidad lo que daña es algún radical derivado del superóxido, como el $\text{OH}^{\cdot}$, que resulta ser mucho más tóxico que el anterior. Por lo que en la formación del radical hidroxilo intervendrían metales pesados y H_2O_2 producido este en la reacción de la Superóxido Dismutasa (SOD) con el radical superóxido.

Esta reacción resultaría beneficiosa para las funciones de defensa frente a agentes extraños mientras permanezca controlada, pero en algunos casos parte de las moléculas oxidantes escapan al exterior de la célula, y en determinadas condiciones pueden dañar tejidos adyacentes tras la formación de radicales hidroxilo.

Se postula que en este caso jugarían un importante papel iones de hierro presentes en el medio extracelular, aunque la cantidad de este elemento en fluidos orgánicos, que no esté unido a Lactoferrina o Transferrina, es inapreciable en condiciones normales, no obstante el hierro podría proceder del elemento fagocitado. En este sentido la capacidad de los asbestos para inducir transformación maligna de células se piensa que es debida al hierro que contienen, de tal forma que este reaccionaría con el H_2O_2 que procede del radical superóxido (*producido por las células fagocitarias presentes en el pulmón*) para generar radical hidroxilo, dañando así tejidos adyacentes. (39-43-42).

1.8.5.5. Endotelio

Se encuentra en mayor proporción en el endotelio, normalmente se produce por la degradación de las purinas, mediante la oxidación de la Xantina por efecto de la Xantino Oxidasa.

Este proceso se genera procesos de isquemia de perfusión produciéndose el anión radical superóxido $O_2^{\cdot-}$.

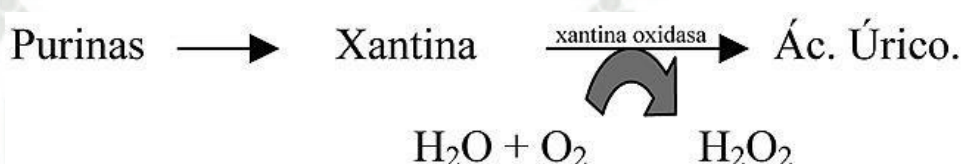


Figura 39, Degradación de las Purinas. (39)

FUENTE: Recuperada de "Daño Oxidativo y Envejecimiento- 2011" [En línea] de:
<https://www.ocw-unican.es>

1.8.6. Otras fuentes de producción de Radicales Libres

1.8.6.1. Por Autooxidación

Algunas biomoléculas pueden oxidarse en presencia de oxígeno produciendo como consecuencia radicales superóxido, tales moléculas son el FADH₂, Adrenalina, Noradrenalina, L-DOPA, dopamina, etc. Se cree que muchas de estas oxidaciones se producen por la presencia de metales de transición como el hierro y el cobre, dado que el oxígeno por sí solo no es suficiente para iniciar dicho proceso.

Este tipo de reacciones, al igual que muchas de las que provocan los radicales libres, se caracteriza por ser un proceso en cadena, lo cual quiere decir que una vez que tiene lugar la primera reacción, el proceso se mantiene, actuando uno o varios productos de la misma como oxidantes en la siguiente, un

proceso similar ocurre en la peroxidación de ciertos lípidos. Estas reacciones son de gran importancia de cara a su participación en determinados procesos degenerativos, debido a la gran cantidad de biomoléculas susceptibles de sufrir el mismo tipo de modificación. (39-43-42)

1.8.6.2. Oxidación de Hemoproteínas de transporte gaseoso

Tanto en la Hemoglobina como en la Mioglobina el transporte gaseoso no implica, tránsito electrónico oxidativo entre el O₂ y el Fe⁺⁺, pero en algunas ocasiones un electrón del hierro pasa al oxígeno produciéndose entonces la oxidación del hierro a Fe⁺⁺⁺ y la formación de radical superóxido.



Figura 40, Oxidación del Hierro con liberación del radical superóxido. (39)

FUENTE: Recuperada de "Daño Oxidativo y Envejecimiento- 2011" [En línea] de:

<https://www.ocw-unican.es>.

El compuesto formado en la reacción anterior (Hem-Fe⁺⁺⁺) es la Metahemoglobina y es incapaz de fijar O₂, se calcula que aproximadamente un 3% de la hemoglobina humana sufre este proceso cada día, y se acelera en presencia de ciertos metales de transición, nitratos, etc.

Además ciertas patologías asociadas a hemoglobinas defectuosas son más susceptibles de formar derivados oxidados, lo que acentúa aún más el problema en individuos que padezcan dichas patologías. (39-43-42)

1.8.6.3. Sistema del Citocromo P-450

La fracción microsomal de algunos tejidos producen in vitro radical

superóxido cuando se los incubaba en presencia de NADPH, en este caso los radicales son producidos mayoritariamente por el sistema denominado genéricamente como sistema del Citocromo P450.

Este complejo enzimático está compuesto por una familia de citocromos que son proteínas con grupo hemo, involucrados en la hidroxilación de numerosos sustratos en presencia de O_2 (**actuando el NADPH como dador de electrones**), es en estos procesos donde un átomo de O se reduce para dar H_2O a expensas de los electrones obtenidos del sustrato, actuando los citocromos como catalizadores del proceso.

El sistema de citocromos P450 se localiza en el retículo endoplasmático y otros orgánulos celulares de plantas y animales (**hígado de animales**) y es el encargado de metabolizar, entre otros, compuestos extraños al organismo (**xenobióticos**) como contaminantes de origen diverso, medicamentos, etc.

Lo que hace en realidad el sistema es tratar de hacer estos compuestos más hidrosolubles y menos tóxicos, favoreciendo con ello su neutralización y eliminación, aunque en algunas ocasiones se genera un subproducto que es más tóxico que el sustrato de la reacción (**tal es el caso del H_2O_2 o el $O_2^{\cdot-}$**). (39-43)

1.8.6.4. Radiaciones ultravioleta

A pesar de que las radiaciones U.V. del espectro solar que alcanzan la superficie de la tierra no tienen energía suficiente para ionizar las moléculas de agua, al incidir aquellas sobre el H_2O_2 producen radicales hidroxilo.



Figura 41, Formación de Radical hidroxilo por acción de radiaciones Ultravioleta. (39)

FUENTE: Recuperada de “Daño Oxidativo y Envejecimiento- 2011” [En línea] de:

<https://www.ocw-unican.es>

Esta capacidad varía con la longitud de onda de la radiación, siendo más acusado este efecto a longitudes de onda más cortas, es decir conviene tener presente esta circunstancia a la hora de estudiar las mutaciones en tejidos expuestos a la acción de los rayos solares.

En este caso el desencadenante de la producción de los radicales, aunque exógeno, estaría favoreciendo la formación de radicales endógenos. Además es probable que por este mecanismo se generen muchas de las mutaciones que afectan al tejido epitelial si tenemos en cuenta la casi permanente presencia de H_2O_2 en las células.

1.8.7. Especies Reactivas de Nitrógeno

Las especies reactivas del nitrógeno son una familia de moléculas antimicrobianas derivadas del óxido nítrico, producido por la actividad enzimática de la NOSi, que es expresada principalmente en macrófagos luego de la inducción por citoquinas y productos microbianos particularmente del Interferón gama (IFN) y los lipopolisacáridos (LPS). (47)

Son producidas a través de la reacción del Óxido Nítrico con el anión superóxido formándose Peroxinitritos (ONOO^-). Actúan en conjunto con las especies reactivas del oxígeno en el daño celular, provocando estrés nitrosativo.

Otro de los radicales libres de interés en medicina es el $\text{NO}\cdot$, este compuesto gaseoso se forma en un proceso que parte de la L-arginina y es catalizado por un tipo de enzimas denominadas genéricamente como Sintetasa del Óxido Nítrico (SON).

El $\text{NO}\cdot$ se puede producir en diferentes tejidos donde los distintos tipos de SON se producen en función de las circunstancias del entorno celular, aunque los tejidos mejor estudiados en este sentido son: el tejido endotelial y el tejido nervioso, además, los macrófagos activados pueden producir elevadas concentraciones de $\text{NO}\cdot$. (47)

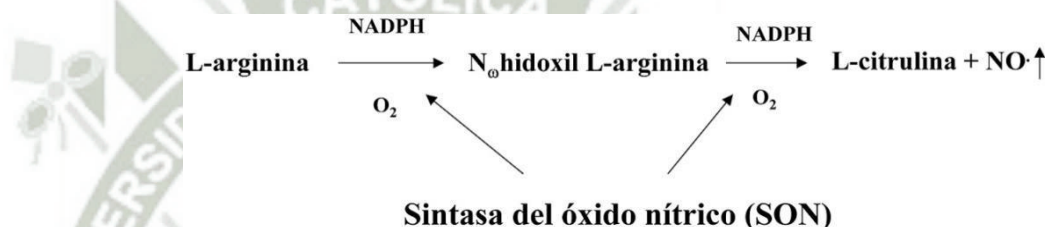


Figura 42, Formación del NO a partir de la L-arginina. (48)

FUENTE: Recuperada de “Especies Reactivas del Nitrógeno-2011” [En línea] de:
<https://www.docsetols.com>

El $\text{NO}\cdot$ tiene un electrón desapareado en su molécula por lo que está considerado como radical libre, aunque su actividad química en lo que respecta a la interacción con la mayoría de las biomoléculas es baja (*lo mismo que ocurre con el $\text{O}_2\cdot^-$*).

El papel fisiológico del $\text{NO}\cdot$ en el ser humano se explica en gran medida por su afinidad por átomos de hierro presentes en el grupo hemo de numerosas enzimas, incluidas las SON que poseen un grupo hemo en su composición.

La unión del NO· al átomo de hierro del grupo hemo es reversible e inactiva la acción de la enzima también de forma reversible, participando de esta forma el NO· en la regulación de determinados procesos enzimáticos.

La química del NO· y sus derivados es compleja ya que depende en gran medida del entorno molecular en el que se encuentre, por esta razón hay muchas facetas fisiológicas atribuidas a dicha sustancia que han de ser estudiadas más a fondo, sobre todo en lo referente a su posible efecto adverso sobre las biomoléculas. En este sentido la participación del NO· en procesos degenerativos no está del todo comprobada, pero hay evidencias suficientes para suponer una posible relación causa efecto en patologías tales como: enfermedad de Parkinson, Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica, etc., (Torreilles *et al.*, 1999).

En todos estos casos la acción del NO· sería indirecta, dada su baja reactividad con biomoléculas, siendo entonces un derivado de este denominado “**anión peroxinitrito**” (OONO·) el verdadero agente oxidante; es decir que en el organismo el OONO· se puede formar por la reacción entre el NO· y el O₂. (47)



Figura 43, Formación de Peroxinitrito a partir de óxido nítrico y radical superóxido. (48)

FUENTE: Recuperada de “Especies Reactivas del Nitrógeno-2011” [En línea] de:
<https://www.docsetols.com>.

El peroxinitrito es un agente de fuerza oxidante similar a la del OH·, sus efectos sobre biomoléculas son diversos: protonaciones, consumo de agentes antioxidantes celulares, oxidación de grupos

sulfidrilos, oxidación de lípidos, nitración de aminoácidos aromáticos, nitración y desaminación de bases nitrogenadas en el ADN, rotura del dúplex de ADN, etc.

Se piensa que algunos de estos efectos no son consecuencia directa del peroxinitrito sobre las biomoléculas, sino de derivados del mismo, tales como el nitroso peroxicarbonato ($\text{O}=\text{N}-\text{OOCO}^{2-}$) producido al reaccionar con el CO_2 presente en los tejidos.

Podemos decir que la presencia de $\text{NO}\cdot$ en un entorno celular donde se produzca O_2 daría lugar a la producción de peroxinitrito que dañaría las biomoléculas, induciendo con ello alteraciones funcionales y estructurales en las proteínas, así como daños en las membranas y mutaciones en el ADN que tendrían su manifestación más potente en diversos procesos degenerativos asociados o no al envejecimiento. No obstante resulta difícil establecer por el momento la incidencia real de los derivados del $\text{NO}\cdot$ en el envejecimiento. (47)

1.8.8. Especies reactivas de Oxígeno (EROS)

La mayoría de los radicales libres importantes para la biología o la medicina son los derivados del oxígeno, que son generalmente moléculas muy pequeñas altamente reactivas debido a la presencia de una capa de electrones de valencia no apareada. Estas especies se forman de manera natural como subproducto del metabolismo normal del oxígeno y tienen un importante papel en la señalización celular. Sin embargo, en épocas de estrés ambiental sus niveles pueden aumentar en gran manera, lo cual puede resultar en daños significativos a las estructuras celulares que conlleva al estrés oxidativo.

1.8.8.1. Tipos de especies reactivas de oxígeno

Entre otros puede mencionarse los siguientes:

O_2^- = Anión superóxido (*Potente agente oxidante que es muy reactivo con el agua*)

OH = Radical hidroxilo (*Se caracteriza por ser el más reactivo de todos los EROS, aceptando un electrón más y da lugar a una molécula de agua*).

H_2O_2 = Peróxido de hidrógeno.

O_2 = oxígeno singlete.

1.8.8.2. Efectos que producen

- Daño a nivel del ADN.
- Daños por oxidación de ácidos grasos polinsaturados y aminoácidos.
- Daños producidos por reacciones con metales como el hierro y el cobre.

Para evitar estos daños, las células tienen varios mecanismos de eliminación y transformación de estos compuestos y estos mecanismos de defensa son los Antioxidantes.

La alteración del balance en los mecanismos de producción y eliminación de los ROS, en favor de la producción de RL, genera un estado de estrés oxidativo en la célula, lo cual puede influenciar en la regulación de ciertos genes que involucran la aceleración en los procesos de envejecimiento y en activación de rutas de apoptosis. (48)

1.9. ANTIOXIDANTES

Se define como antioxidante a toda sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones con respecto a las de un sustrato oxidable (biomoléculas), retarda o previene la oxidación de dicho sustrato. (46-47).

En donde el antioxidante al colisionar con el radical libre le cede un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil no tóxico y que en algunos casos como la vitamina E, puede regenerarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes.

No todos los antioxidantes actúan de esta manera, los llamados antioxidantes enzimáticos, catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan sustratos que a su vez reaccionan con los radicales libres. (46)

1.9.1. Papel de los Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias que tiene la capacidad de inhibir la oxidación causada por los radicales libres, es decir son el batallón que contrarrestan los daños producidos por los radicales libres. Unos actúan a nivel intracelular y otros a nivel de la membrana celular, actuando en forma conjunta para proteger a los diferentes órganos y sistemas. (48-49).

1.9.2. Tipos de Antioxidantes

1.9.2.1. Antioxidantes Exógenos

Son aquellos antioxidantes que provienen de la dieta neutralizando los efectos oxidantes de los radicales libres, dentro de estas sustancias tenemos a: (50-51)



Figura 44, Clasificación de los Antioxidantes Endógenos. (51)

FUENTE: Recuperada de "Antioxidantes Endógenos-2009" [En línea] de:
<https://www.es.slideshare.net>

CAROTENOS

Son precursores de la vitamina A, junto con el betacaroteno hacen un exquisito coctel de antioxidantes. Posee virtudes anti edad en el organismo al formarse la vitamina A que estimula al sistema inmunitario.

Previene el cáncer de pulmón, estómago y mama; previene los infartos del corazón, previniendo la oxidación del colesterol que bloquea la luz de las arterias y por último aumenta la defensa de nuestro cuerpo.

La podemos encontrar en las verduras verdes como el brócoli, espinaca, zanahoria, calabazas, melocotones, tomates, melones; así el betacaroteno lo encontramos frutas y verduras amarillas y anaranjado y verduras verde oscuros.

El alfa caroteno lo encontramos en la zanahoria, el licopeno en los tomates y la luteína y zantina la encontramos en las verduras de hojas verdes como el brócoli, espinacas, lechuga, etc. (50-51)



Figura 45, Alimentos ricos en Carotenos. (51)

FUENTE: Recuperada de “Antioxidantes Endógenos-2009” [En línea] de:

<https://www.es.slideshare.net>

Vitamina C

La vitamina tiene la capacidad de proteger las arterias, estimula el sistema inmunológico, previene el cáncer las enfermedades del pulmón, y las cataratas. Lo podemos encontrar especialmente en limón, lima, naranja, mango, kiwi, fresa, papaya mora, piña, tomate, verduras de hojas verdes (espinacas, perejil, hojas de rábano), coliflor, repollo, pepino, pimiento, y lechuga. (50-51)



Figura 46, Alimentos ricos en vitamina C. (51)

FUENTE: Recuperada de “Antioxidantes Endógenos-2009” [En línea] de:

<https://www.es.slideshare.net>

Vitamina A

En el ojo es muy importante debido a que es componente de la púrpura visual de la retina y si hay carencia de esta vitamina, la capacidad de ver con luz tenue disminuye, lo que se conoce como ceguera nocturna.

Se encuentra solamente en productos animales como el huevo, mantequilla ligera leche desnatada, hígado y algunos pescados. (51)



Figura 47, Alimentos ricos en Vitamina A. (51)

FUENTE: Recuperada de "Antioxidantes Endógenos-2009" [En línea] de:

<https://www.es.slideshare.net>

Vitamina E

Es la vitamina más importante para bloquear los efectos de la edad, bloquea la oxidación del colesterol malo (**LDL**) y otros lípidos perjudiciales, previene el cáncer y el infarto, evita el deterioro de las arterias, incrementa las defensas y protege al cerebro de enfermedades degenerativas.

Se encuentra en aceites vegetales como el de oliva extra virgen (**contiene esta vitamina en gran cantidad**), soya, maíz, girasol, etc, frutos secos, semillas y cereales.

También lo podemos encontrar en las papa, pimentón, palta, apio, repollo, pollo y pescado. (51)



Figura 48, Alimentos ricos en vitamina E. (51)

FUENTE: Recuperada de "Antioxidantes Endógenos-2009" [En línea] de:

<https://www.es.slideshare.net>

Minerales

Son importantes para la síntesis de las enzimas antioxidantes internas.

Una buena forma para asegurarse un buen aporte de minerales es consumir alimentos integrales y no desechar la parte verde de las verduras. Siendo muy importante la introducción de las algas marinas dentro de la dieta normal, por su riqueza en sales minerales. (51)



Figura 49, Alimentos ricos en minerales. (51)

FUENTE: Recuperada de "Antioxidantes Endógenos-2009" [En línea] de:
<https://www.es.slideshare.net>

Otros tipos de antioxidantes exógenos

Coenzima Q10

La podemos encontrar en la víscera de animales sobre todo a nivel del corazón, hígado y riñones, la caballa, el atún, sardinas, aceite de soja, hortalizas de la familia de coles, palta, mariscos y espinacas. (50-51)



Figura 50, Alimentos ricos en Coenzima Q-10. (51)

FUENTE: Recuperada de “Antioxidantes Endógenos-2009” [En línea] de:

<https://www.es.slideshare.net>

Fitoquímicos protectores

Bioflavonoides

Son aquellos alimentos que están ligados a la coloración de las frutas y verduras, siendo su función fundamental protegerlas de la oxidación por efecto del oxígeno ambiental. Dentro de estos tenemos a: (51)

- Quercitinas que lo encontramos en la cebolla, manzana, cerezo, naranja, uva y repollo rojo.
- Hesperidina lo encontramos en la piel de los cítricos.
- Naranjina es el que da el sabor amargo de los cítricos.
- Limonelo lo encontramos en el limón y en la lima.



Figura 51, Alimentos con alto contenido de Bioflavonoides. (51)

FUENTE: Recuperada de “Antioxidantes Endógenos-2009” [En línea] de:

Antocianinas

Se encuentra asociado al color morado de los arándanos, uvas negras, moras negras, fresas etc. (51)

Una dieta rica en arándanos podría frenar el avance de cáncer de colon

El estudio analizó el efecto del pterostilbeno en ratas con cáncer de colon. El pterostilbeno es un compuesto fitoquímico que se encuentra en la uva, pero sobretodo en los arándanos (ver imagen). Las ratas que consumieron una dieta con pterostilbeno (a razón de 40 mg por kg de peso) presentaron un crecimiento del cáncer de colon un **57%** menor que las ratas que no consumieron pterostilbeno



Figura 52, Alimentos con alto contenido de Antocianinas. (51)

FUENTE: Recuperada de "Antioxidantes Endógenos-2009" [En línea] de:

<https://www.es.slideshare.net>

Indóles y Tioles

Que son elementos ricos en azufre, los cuales favorecen la producción de enzimas antioxidantes. (51)



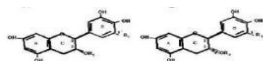
Figura 53, Alimentos con alto Indóles Tioles. (51)

FUENTE: Recuperada de "Antioxidantes Endógenos-2009" [En línea] de:

<https://www.es.slideshare.net>

Cateninas

Se encuentran presente en el té verde.



Una típica infusión de té preparada a partir de un gramo de hoja de té y 100 mL de agua caliente, provee aproximadamente 250-350 mg de material sólido, constituido por **35-45%** de catequinas (en sus diversos grados de polimerización) y un 6% de cafeína



Figura 54, Alimentos con alto contenido de Catequinas. (51)

FUENTE: Recuperada de "Antioxidantes Endógenos-2009" [En línea] de:

<https://www.es.slideshare.net>

Lignanos

Presente en las semillas de lino.

La riqueza de las semillas de lino se concentra en sus propiedades **antioxidantes**, **protectoras del corazón**, **antitrombogénica**, **reguladora de los niveles de colesterol** y **anticancerígena** (tumores de mama, colon y próstata). Los lignanos (en el aceite de lino no, sólo en las semillas), se encuentran en la mayoría de las plantas ricas en fibra, pero las semillas de lino son las mayores fuentes de esta sustancia. Son un químico natural vegetal contenido dentro de la matriz de las semillas de lino y considerados como **hormonas de las plantas**. Cuando las bacterias en el tracto digestivo actúan sobre los lignanos estos se convierten en potentes sustancias similares a las hormonas, conocidos como compuestos **fitoestrogénicos**.



Figura 55, Alimentos con altos contenidos Lignanos. (51)

FUENTE: Recuperada de "Antioxidantes Endógenos-2009" [En línea] de:

<https://www.es.slideshare.net>

Isoflavonas

Presente en la soja y preparados como los porotos y harina, siendo la genisteína la isoflavona más poderosa siendo capaz de inhibir la producción de radicales libres a partir de la Xantina Oxidasa.

La **genisteína** se considera el antioxidante más potente entre otras isoflavonas, siendo también capaz de inhibir la generación de radicales libres por la xantina oxidasa. Los radicales libres parecen jugar un rol importante en la mutagénesis y carcinogénesis. In vitro se demostró que tanto la **genisteína** como la **daidzeína** protegieron el DNA de linfocitos sanos o tumorales contra el daño oxidativo.



Figura 56, Alimentos ricos en Isoflavonas.

FUENTE: Recuperada de "Antioxidantes Endógenos-2009" [En línea] de:

<https://www.es.slideshare.net>

1.9.2.2. Antioxidantes Endógenos

Son sustancias producidas en el cuerpo y dentro de ellos tenemos también enzimas producidas por las células para protegerlas de la acción de los radicales libres. (53-54)

1.9.2.2.1. Antioxidantes endógenos propiamente dicho

- Glutación

Es el mayor antioxidante endógeno producido por las células, que ayuda a proteger a las células de nuestro organismo de las especies reactivas del oxígeno como los radicales libres y los peróxidos, participando directamente en la neutralización de radicales libres y compuestos de oxígeno reactivo, así como el mantenimiento de los antioxidantes exógenos, como las vitaminas C y E en sus formas reducidas (**activas**).

A través de la conjugación directa, desintoxica muchos xenobióticos (**compuestos extraños**) y los agentes carcinógenos, tanto orgánicos como inorgánicos.

Es esencial para el sistema inmunológico pues ejerce todo su potencial, por ejemplo, modula la presentación de

antígenos a los linfocitos, lo que influye en la producción de citoquinas y el tipo de respuesta (**celular o humoral**) que se desarrolla, al aumentar la proliferación de los linfocitos, lo que aumenta la magnitud de la respuesta, además regula de la apoptosis, manteniendo así el control de la respuesta inmune.

Desempeña un papel fundamental en numerosas reacciones metabólicas y bioquímicas como la síntesis y reparación del ADN, síntesis de proteínas, síntesis de prostaglandinas, y transporte de aminoácidos. Por lo tanto, todos los sistemas del cuerpo pueden ser afectados por el estado del sistema de glutatión, especialmente sistema inmunitario, sistema nervioso, sistema gastrointestinal y pulmonar. (53-54)

- **Coenzima Q**

La coenzima Q es una benzoquinona liposoluble que se produce en la mayoría de células eucariotas específicamente en las mitocondrias, interviene en la respiración celular aeróbica generando el 95% de ATP, por lo tanto los órganos donde mayor cantidad existe es el hígado, corazón y riñón; siendo su forma reducida la que actúa como antioxidante. (53-54)

1.9.2.2.2. Enzimas Antioxidantes

- **Superóxido Dismutasa**

Esta enzima cataliza la dismutación del anión superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno, por lo que se le considera como un importante agente antioxidante en la mayoría de células expuestas al oxígeno.

En el humano existe tres formas de SOD bajo las siguientes formas SOD1 que se encuentran en el citosol, la SOD2 que se encuentra en las mitocondrias y SOD3 que se encuentra en el líquido extracelular. (53-54)

- **Catalasa**

Enzima que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua, utilizando como cofactor al grupo Hemo y al Manganese. Es producida en los peroxisomas del citoplasma celular. (53-54)

1.9.3. Balance entre radicales libres y antioxidantes:

Es importante mencionar el concepto de “**balance**” entre radicales libres y antioxidantes en el organismo, es decir que como el hierro, los radicales libres son tóxicos e indispensables a la vez, la vida depende de su control riguroso, o sea de un equilibrio que apenas ahora estamos empezando a elucidar. En la actualidad se sabe que una de las características del envejecimiento es la pérdida de control de este balance, lo que conduciría a ciertos tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares entre otras.

Si el uso de suplementos antioxidantes es hoy un tema controvertido, no hay especialista que niegue que el consumo de verduras y frutas (**ricas en antioxidantes**) es indispensable para una buena salud. Ahora se conocen las cantidades de vitamina C, vitamina E y selenio necesarias al día, y también se sabe que una buena alimentación es suficiente para satisfacer esas necesidades. (53-54).



CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Metodología de la Investigación

2.1.1. Tipo de Investigación

Experimental, debido a que se analiza en el presente trabajo el efecto producido por el incremento agudo de la glucosa sobre la respuesta vasodilatadora de anillos aislados de aorta torácica de ratas.

2.1.2. Nivel de Investigación

Se llevó a cabo una investigación de carácter Descriptivo-Explicativo-Demostrativo y Experimental con el fin de obtener información sobre los diversos factores relacionados con el efecto del incremento de la glucosa sobre las paredes aórticas de ratas normoglicémicas.

2.1.3. Diseño de Investigación

La presente investigación corresponde al diseño Cuantitativo de Laboratorio o Experimental.

2.1.4. Campo de Investigación

El trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios del Centro de Investigaciones y Desarrollo Científico (CIDEDEC) de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional de San Agustín- Arequipa.

2.1.5. Población

Fue constituida por 20 ratas de la especie Sprague-Dawley variedad Albina swiss, con un peso aproximado de 250 ± 20 mg, criados en el bioterio del Centro de Investigación Científica (**CIDEDEC**) de la Universidad Nacional de San Agustín (**UNSA**).

Para el manejo de los animales se consideró las normas y procedimientos éticos establecidos internacionalmente en la **“Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio de la National Research Council, Washington-DC”**.

Para el mantenimiento de las ratitas se les administro diariamente y a la misma hora 30 gramos de concentrado para mantenimiento de TOMASINO® y agua ad libitum (**a voluntad**) y se las mantuvo con ciclo regular de luz/sombra de 12 horas y en jaulas individuales con su viruta correspondiente.

2.1.6. Unidades de Estudio

Las unidades de estudio fue constituido por anillos de aorta torácica, para lo cual las ratas fueron sometidas a muerte por contusión cervical y se les practicó una incisión pre-esternal, abordando su cavidad torácica, procediéndose entonces a remover la aorta torácica, eliminando la adventicia y el tejido conectivo periaórtico.

Posteriormente se seccionó las aortas en anillos de 5 mm de longitud, obteniéndose en total cinco anillo por aorta, que fueron colocados en solución salina fisiológica para su conservación y posterior utilización.

2.2. Materiales

2.2.1. Instrumentos de Laboratorio

- Cámara de órganos aislados para anillos de aorta, termo regulado mediante circuito de agua externo.
- Balón de oxígeno y de anhídrido carbónico.
- Polígrafo marca Grass Instrument de 10 canales.
- Transductor Isométrico marca Grass Instrument.
- Pinzas.
- Tijeras de disección.

- Lupa.
- Guillotina.
- Matraz aforado de 500 ml.
- Embudo.
- Vaso de precipitados de 250 y 500 ml.
- Probeta de 250 ml.

2.2.2. Reactivos y drogas:

Todos los reactivos fueron adquiridos de Sigma Chemical Company (St. Louis, MO, USA).

- Solución de Noradrenalina 5 μ M.
- Solución de Acetilcolina 10^{-7} M , 10^{-6} M, 10^{-5} M.
- L-arginina 0,1 mM.
- Xantina Oxidasa 0,01 U/ml.
- Hipoxantina 10^{-4} M
- Alopurinol 10^{-4} M.
- Solución salina fisiológica (SSF) conocida también como Solución de Tolude para 1000 ml de preparación:

NaCl	8,5 g
KCl	0,2 g
NaH ₂ PO ₄	0,05 g
MgCl ₂	0,01 g
CaCl ₂	0,2 g
NaHCO ₃	1,0 g
D-glucosa	(Grupo A= grupo 99 g)
	(Grupo B= 480 g)
EDTA	0,026

2.3. Diseño Experimental

2.3.1. Etapa Pre Experimental

Se realizaron las pruebas pilotos con la finalidad de determinar la dosis de los fármacos utilizados así como realizar los ensayos de obtención y manejo de los anillos aórticos aislados.

2.3.2. Etapa de Estandarización

Se estandarizó las condiciones ambientales en especial la alimentación, la cual consistió en administrar un producto patentado TOMASINO®. Suministrándose el alimento cada 24 horas a la misma hora y agua Ad Libitum (a voluntad), manteniéndose a los animales en jaulas individuales.

Además se procedió a calcular el peso adecuado que se debe administrar en la cámara de órganos que nos ayude a determinar la presión lo más semejante posible a la del cuerpo.

2.3.3. Etapa Experimental

2.3.3.1. Obtención de los anillos torácicos:

La obtención de los anillos aórticos torácicos, se realizó mediante la contusión cervical, por ser su muerte súbita y por lo tanto menos dolorosa, para lo cual se procedió a realizar una incisión pre-esternal, abordando la cavidad torácica, eliminando con sumo cuidado la adventicia y el tejido periaórtico, mediante el uso de pinzas.

Luego se seccionó las aortas en anillos de 5 mm de longitud; obteniéndose 5 anillos de cada aorta torácica y cada anillo fue utilizado en experimentos diferentes.

Utilizándose por cada animal, dos anillos los cuales fueron utilizados para las pruebas de control y tres anillos para la comparación con los agentes vasodilatadores y vasoconstrictores.

Cada anillo fue colocado para su conservación en una placa Petri que contiene Solución Salina Fisiológica (**SSF**).

2.3.3.2. Inserción de los anillos aislados en la cámara de órganos aislados

Para el inicio del trabajo de investigación se agrupó a los anillos en dos grupos de trabajo, esto con la finalidad de observar las diferentes respuestas frente a los agentes vasodilatadores y vasoconstrictores que se utilizaron en la investigación, estos grupos fueron:

GRUPO A (grupo normoglicémico), constituido por anillos de aorta torácica sometidas a 99 mg/dl de Glucosa.

GRUPO B (grupo hiperglicémico), constituido por anillos de aorta torácica sometidas a 480 mg/dl de glucosa.

Para el inicio del trabajo se utilizó el método descrito por Furchgott et al. (2-4), siendo cada anillo de cada grupo, insertado dentro del pozo de la cámara de órganos aislados para su estudio, entre dos postes, uno fijo a manera de poste en el borde interno de la cámara y el otro móvil, unido al extremo terminal de un transductor de tensión isométrica (**GrassFT-10**), que se encuentra unido a un polígrafo Grass (**Grass AM-5**), con su aguja inscriptora, el cual registró sobre papel milimetrado la actividad de los anillos aórticos.

Entonces se llenó el pozo de la cámara con 750ul de Solución Salina Fisiológica o Solución de Tolude (g)(*NaCl 8,5; KCl 0,2; NaH₂PO₄ 0,05; CaCl₂ 0,2; NaHCO₃ 1,0; D-glucosa 99 y 480 según caso y EDTA 0,026*), mantenida con burbujeo continuo de una mezcla carbogenada de gases (*95% de O₂ más 5% de CO₂*), siendo la temperatura mantenida a $37,0 \pm 0,5$ °C, gracias al empleo de un termo reciclador con circulación de agua continua.

Entonces, se aplicó una tensión equivalente a 2 gramos, siendo este valor obtenido en las pruebas piloto previo al estudio, donde se logró el máximo valor de contracción estable con Noradrenalina 5 mM.

Posteriormente, se dejó reposar la preparación durante 40 minutos aproximadamente, esperando su estabilización, cambiando hasta en 3 oportunidades la solución salina fisiológica cada diez minutos.

Una vez estabilizada la preparación de cada grupo (*lo cual se conoce porque deja de oscilar la aguja registradora del polígrafo*), se procedió a administrar al baño de la cámara de órganos aislados, las drogas en estudio tal y como se reseña en el protocolo que se detalla a continuación.

2.4. Protocolo de administración de los fármacos en estudio:

2.4.1. Determinación del patrón de vasoconstricción y vasodilatación máxima de anillos de aorta torácica

Grupo de trabajo: A

Técnica empleada: Furchgott y Zawadski.

Para obtener la respuesta patrón de vasoconstricción, se añadió al baño 50 μ l de solución de Noradrenalina (5 μ M) realizándose entonces 3 mediciones de 2 minutos de duración con un intervalo de 10 minutos entre ellas.

Luego se lavó el anillo 3 veces con SSF, hasta lograr el retorno de la aguja a la línea de base, y seguidamente se administró al baño una solución 10^{-5} M de Acetilcolina.

Al porcentaje de la respuesta así obtenida, se la consideró para efectos comparativos como la respuesta fisiológica normal de vasoconstricción y vasodilatación máxima. Terminado el protocolo, se fueron extrayendo los anillos de los soportes de la cámara para la administración de los fármacos en estudio.

2.4.2. Respuesta vasoactiva de anillos aislados frente a dosis creciente de Acetilcolina

Grupo de trabajo: A y B

Técnica empleada: Furchgott y Zawadski en 1980.

Una vez obtenidos los patrones de contracción y relajación normal, se procedió a repetir todo el procedimiento tanto en el grupo A como en el grupo B.

Para lo cual previamente se incubó durante 6 horas en solución salina fisiológica a ambos grupos variando la concentración de glucosa; es decir para el grupo A (**grupo normoglicémico**) la solución salina fisiológica tuvo una concentración de 99 mg/dl de glucosa; mientras que para el grupo B (**grupo hiperglicémico**), la solución salina fisiológica tuvo una concentración de 480 mg/dl.

Entonces se colocó cada anillo en la cámara de órganos, procediéndose a su estabilización por un periodo de 60 minutos, tiempo durante el cual se cambió cada 10 minutos la solución salina fisiológica a las concentraciones determinadas para cada grupo de trabajo.

Una vez estabilizadas las muestras, los anillos fueron contraídos agregándose al baño la solución de Noradrenalina 5 mM, esto con la finalidad de obtener la máxima contracción de los anillos torácicos; una vez obtenida la máxima contracción sostenida, se aplicó dosis creciente de Acetilcolina (10^{-7} M, 10^{-6} M y 10^{-5} M), a cada grupo, registrándose la actividad vasomotora durante diez minutos.

Para este ensayo se realizó diez pruebas con cada dosis y se calculó el porcentaje de vasodilatación considerando la máxima contracción sostenida en cada caso.

2.4.3. Respuesta vasoactiva del endotelio dependiente frente a la L-arginina

Grupo de trabajo: A y B

Técnica empleada: Furchgott y Zawadski en 1980.

Para determinar la vasodilatación dependiente del endotelio, previo a la administración de Acetilcolina 10^{-5} M, se incubó con 5ml de solución de L-arginina (0,1mM) y 8 ml de SSF, durante treinta minutos en una placa Petri, con concentraciones de glucosa según el grupo de trabajo.

Transcurrido este tiempo se colocó las muestras de ambos grupos por separado, en la cámara de órganos aislados y se adicionó primero 50 μ l de NA seguido de 50 μ l de Acetilcolina 10^{-5} M y se observó el efecto producido con la L-arginina, realizándose la comparación entre los resultados obtenidos.

Todo este procedimiento tiene fundamento en que la L-arginina (**aminoácido semiesencial**) es un precursor del Óxido Nítrico, y se encuentra normalmente en altas concentraciones en el endotelio, produciendo vasodilatación en condiciones normales.

2.4.4. Determinación de la producción de radicales libres sobre la vasoconstricción de anillos

Grupo de trabajo: A y B

Técnica empleada: Furchgott y Zawadski / Fortuño Ña.

Previo a la relajación patrón con Acetilcolina 10^{-5} M, los anillos fueron expuestos a 5 ml de Xantino Oxidasa (**enzima que genera especies reactivas de oxígeno**) y se procedió igual que en el ensayo anterior.

Una vez tratados los anillos de ambos grupos, se procedió a colocarlos en la cámara de órganos aislados y se adicionó 50 μ l de Hipoxantina (10^{-4} M) y 700 μ l de solución salina fisiológica con su respectiva concentración de glucosa, para observar la reacción que se produce.

Este ensayo, sirve para producir radicales libres de oxígeno por oxidación enzimática de Hipoxantina a ácido úrico y liberación de Peróxido de Oxígeno, esto por acción de la Xantina Oxidasa presente en el medio de incubación, descrita por Fortuño ÑA (72)

2.4.5. Efecto del tratamiento con antioxidantes Alopurinol

Grupo de trabajo: A y B

Técnica empleada: Furchgott y Zawadski/ Fortuño Ña.

Para esta prueba los anillos, procedentes del ensayo anterior, fueron sometidos a pre incubación con 7 ml de solución de Alopurinol 10-4 M por 30 minutos.

Al término de dicho tiempo se colocó las aortas en estudio en la cámara de órganos aislados y se observó la respuesta producida.

2.5. Estrategia de recolección de datos

Los datos se obtuvieron de los gráficos registrados en el papel milimetrado del polígrafo que muestran los cambios de diámetro de los anillos aórticos en respuesta a las diferentes drogas.

Para ello, la señal mecánica es traducida en señal eléctrica que luego será amplificada y graficada en el papel milimetrado.

2.6. Diseño Estadístico

La base de datos y gráficos fueron constituidos con el por el programa Microsoff Office Excel 2007 y para el análisis de datos se empleó el paquete estadístico SAS: Statistical Análisis System, Raleigh, North Carolina: SAS Institute, INC.

Una vez determinada la normalidad de los datos se procedió a calcular los siguientes estadígrafos:

- T de student para hallar la diferencia entre dos medidas independientes.
- Para efecto del tratamiento se utilizó el estudio de varianza simple (**ANDEVA**).
- La prueba de Tukey, permitió determinar la efectividad del tratamiento a través del tiempo.

La diferencia se consideró como:

No significativa → $p > 0,05$

Significativa → $p < 0,05$

Altamente significativa → $p < 0,01$



CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIONES

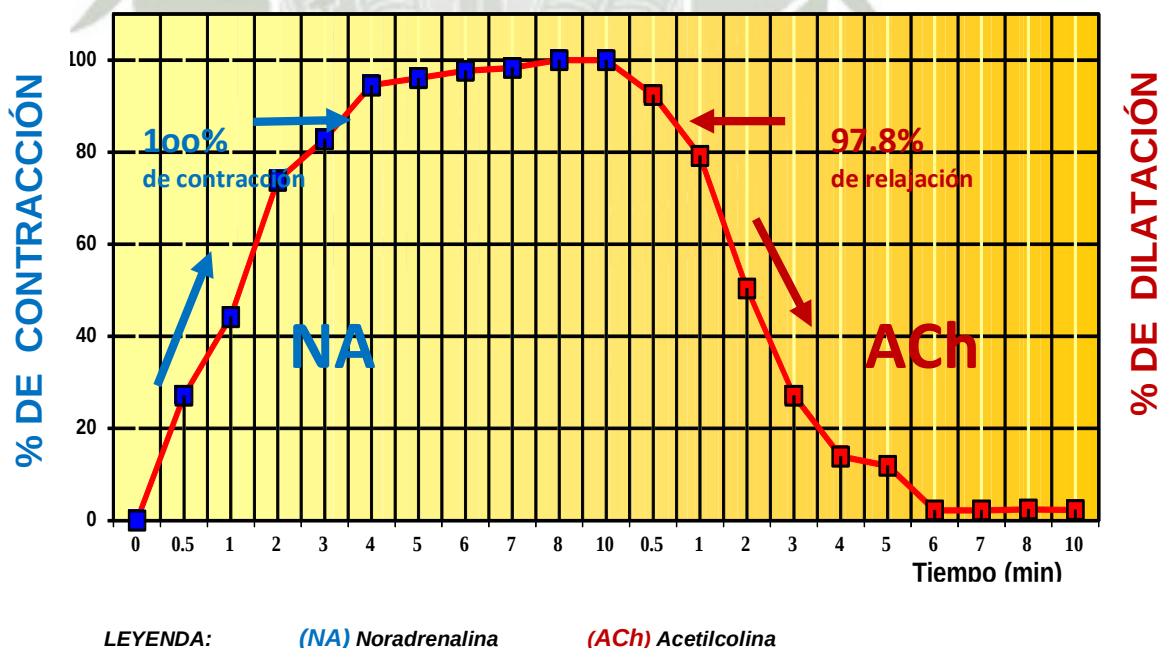
3. Resultados y Discusión

La presente sección presenta los resultados experimentales de los diferentes grupos de trabajo bajo las diversas condiciones estudiadas. Tanto las tablas como los gráficos se estructuraron en base a las frecuencias individuales encontradas para cada droga a través del tiempo. Cada una de las tablas presenta para cada tiempo, el valor en porcentaje, después de haber promediado cinco (5) respuestas, el efecto vasoconstrictor o vasodilatador.

Así mismo, se incluye el análisis estadístico respectivo con el grado de significancia encontrada, resultado del test de especificidad de Tukey modificado, ajustándose todos los datos a un valor de probabilidad igual o mayor del 99%.

3.1. Determinación del patrón de vasoconstricción y vasodilatación máxima (gráfico y tabla 1)

Gráfico 1: Patrón de vasoconstricción y vasodilatación máxima frente a la Noradrenalina y la Acetilcolina (Grupo de trabajo A).



FUENTE: Imagen de elaboración propia.

Tabla 1: Respuesta vasoactiva expresada en porcentaje de anillos frente a la Noradrenalina y la Acetilcolina (Grupo de trabajo A)

Tiempo (min)	0	0,5	1	2	3	4	5	6	7	8	10
NA	0	26,8	45,6	74,2	83,1	93,9	96,6	97,2	97,9	100	100
$\pm$ ES	0	2,8	2,4	3,0	3,2	4,3	4,7	4,7	5,2	4,12	5,1
ACh	100	92,4	79,2	50,4	27,1	13,9	11,9	2,2	2,2	2,4	2,3
$\pm$ ES	0	0,2	4,7	3,6	4,5	5,2	4,2	2,4	1,3	1,0	0,8

LEYENDA: (**NA**) Noradrenalina, (**ACh**) Acetilcolina, ($\pm$ ES) Media de Error Estándar.

FUENTE: Tabla de elaboración propia.

En el gráfico y tabla 1, se puede observar que a partir de los 30 segundos de haber administrado la Noradrenalina a los anillos torácicos del grupo A (*grupo normoglicémico*), comienza a manifestar el efecto vasoconstrictor, alcanzando el 50% de respuesta al cabo de los dos primeros minutos, para luego ascender lentamente los seis minutos restantes, manifestando su máxima respuesta se manifiesta a los ocho minutos, considerándose a este valor para efectos comparativos, **como el 100% de contracción**.

Así mismo, se observa la respuesta vasodilatadora de los anillos frente a la Acetilcolina, que manifiesta su efecto relajante, a partir del minuto de ser tratada, alcanzando el 50% de relajación al cabo de cinco minutos, para luego descender lentamente hasta el minuto diez, donde alcanza su máxima **dilatación de 97.8%**.

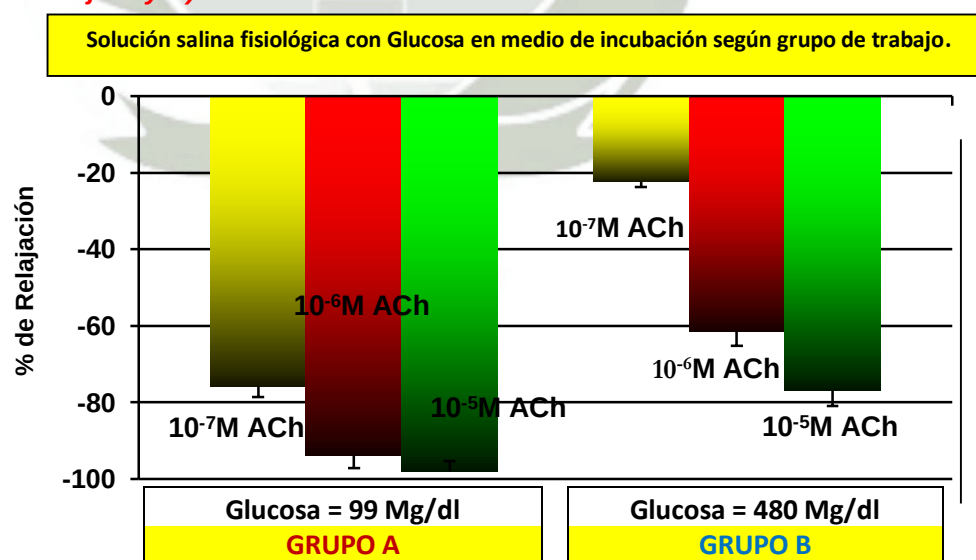
La **tabla 1**, expresa los resultados el promedio en porcentaje de cinco anillos de aortas torácicas $[(a_1+a_2+a_3+a_4+a_5)/5]100$, determinándose que

con el transcurso del tiempo dicha respuesta se va incrementando para el caso de la administración de Noradrenalina, y disminuyendo para el caso de la administración de Acetilcolina y para la media de error, se le aplicó el análisis de varianza simple (**ANDEVA**). Es decir según el estudio de la curva obtenida, se observa que la respuesta de ambos fármacos, presentan la típica respuesta vasoconstrictora y vasodilatadora, que se produce en endotelios normales; siendo estas respuestas tomadas como patrón para ser comparadas con las aortas tratadas con exceso de glucosa.

Similares resultados se obtuvieron cuando se trabajó con ratas diabéticas Hunt, Smith, and S. P. Wolff. "Autoxidative glycosylation and possible involvement of peroxides and free radicals in LDL modification by glucose". Diabetes 39: 1420-1424, 1990.)

3.2. Respuesta vasoactiva de anillos aislados frente a dosis creciente de Acetilcolina (gráfico y tabla 2)

Gráfico 2: Respuesta vasodilatadora de anillos a dosis creciente de ACh (Grupo de trabajo A y B).



LEYENDA: (ACh) Acetilcolina a dosis creciente de 10⁻⁷, 10⁻⁶, y 10⁻⁵ M.

FUENTE: Imagen de elaboración propia.

Tabla 2: Respuesta vasoactiva de los anillos aórticos en porcentaje frente a dosis creciente de Acetilcolina (Grupo de trabajo A y B)

Concentración de ACh	Concentración de glucosa en la solución salina fisiológica		Prueba t	
	GRUPO A	GRUPO B		
	99 mg/dl	480 mg/dl		
0,1 μ M $\pm$ ES	76,0 $\pm$ 2,7 %	22,3 $\pm$ 1,5 %	P<0,05	s
1,0 μ M X $\pm$ ES	94,2 $\pm$ 3,02 %	61,6 $\pm$ 3,7 %	P<0,05	s
10 μ M X $\pm$ ES	97,8 $\pm$ 2,6 %	76,7 $\pm$ 4,2 %	P<0,01	as
n	5	5		

LEYENDA: (**ACh**) Acetilcolina, ($\pm$ ES) Media de Error Estándar, (n) Tamaño de la muestra, (s) error significativo, (as) altamente significativa y (ns) porcentaje de error no significativo.

FUENTE: Tabla de elaboración propia.

En el gráfico y tabla 2, se observa el efecto que produce dosis crecientes de Acetilcolina, tanto en el grupo A como en el grupo B, así en el gráfico 2, se observa que las primeras barras que representa al Grupo A (*grupo normoglicémico*), presentan una mayor respuesta de la actividad vasodilatadora, ya que a medida que se incrementa la dosis del agente vasodilatador, se produce mayor relajación en el endotelio vascular tratado, siendo mayor la respuesta a mayor concentración de Acetilcolina (10^{-5} M), lográndose la dilatación máxima de 97.8% igual que en la prueba anterior.

Mientras que en la segunda barra que representa al Grupo B (*grupo hiperglicémico*), se observa que la dilatación está marcadamente disminuida; a comparación de los resultados obtenidos con el grupo A; lo cual podría indicarnos que se estaría produciendo una disfunción en el endotelio probablemente por efecto del incremento de la glucosa en el medio.

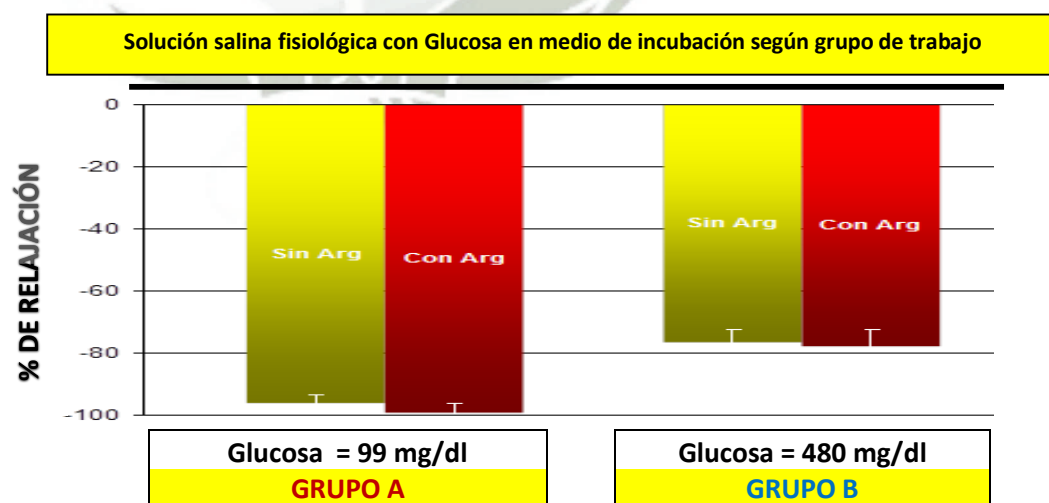
La **tabla 2**, expresa resultados que fueron obtenidos sacando el porcentaje de cinco aortas torácicas $[(a_1+a_2+a_3+a_4+a_5)/5]100$, lo que fue realizado tanto en el grupo A como en el grupo B. (**ANDEVA y prueba de Tukey**).

Así se observa que la respuesta dada por el **grupo B** frente a dosis crecientes de ACh, presenta una respuesta de $22,3 \pm 1,5$; $61,6 \pm 3,7$; $76,7 \pm 4,2$ respectivamente; dichos valores son diferentes de la máxima dilatación sostenida 97,8% (**t de student para una muestra, $P < 0,05$**), por lo tanto es considerada la respuesta como vasodilatación, además existió una diferencia significativa entre la vasodilatación producida a 10^{-7} M, y con 10^{-6} M más con 10^{-5} M se obtuvo una respuesta altamente significativa de $p < 0,01$ (**ANDEVA y prueba de Tukey $p < 0,05$**).

Similares resultados se obtuvieron, cuando se trabajó con anillos de ratas Moreno Loaiza Oscar en “Efecto vasodilatador mediado por óxido nítrico del extracto hidroalcohólico de Zea mays L. (Maíz morado) en anillos de ratas. Plantas Medicinales 529-530, 2010).

3.3. Respuesta vasoactiva del endotelio dependiente frente a la L-arginina (**gráfico y tabla 3**)

Gráfico 3, Respuesta vasoactiva frente a la L-arginina (**Grupo de trabajo A y B**)



LEYENDA: (**Arg**) L-arginina

FUENTE: Imagen de elaboración propia.

Tabla 3, Porcentaje de respuesta vasoactiva de los anillos frente a la L-arginina (Grupo de trabajo A y B)

	Concentración de glucosa en solución salina fisiológica				Prueba t	
	GRUPO A		GRUPO B			
	99 mg/dl		480 mg/dl			
Sin L-arg X ± ES	97,1 ± 2,7		76,7 ± 4,2		P<0,01	as
Con L-arg X ± ES	99,4 ± 3,02		78,1 ± 5,6		P=0,05	s
Prueba t	P<0,01	s	P<0,01	s		
n	5		5			

LEYENDA: (**L-arg**) L-arginina, (± ES) Media de Error Estándar, (n) Tamaño de la muestra, (s) error significativo, (as) altamente significativa y (ns) porcentaje de error no significativo.

FUENTE: Tabla de elaboración propia.

El gráfico y tabla 3, describen las diferencias que presentan los anillos de aorta torácica frente a la L-arginina (*precursor del NO*), así tenemos tanto en el **grupo A y B**, al reaccionar con la L-arginina, se produce una relajación que alcanza el 99,4% (grupo A) y 78,1% (grupo B), considerándose estas respuestas como significativa p=0,05, lo cual podría deberse a que se está adicionando al medio L-arginina (precursor del óxido nítrico), motivo por lo que se produciría mayor respuesta vasodilatadora del endotelio tratado.

Según el análisis de la tabla 3, nos indica que los anillos de aorta torácica al ser tratados con L-arginina, reaccionan de la siguiente manera:

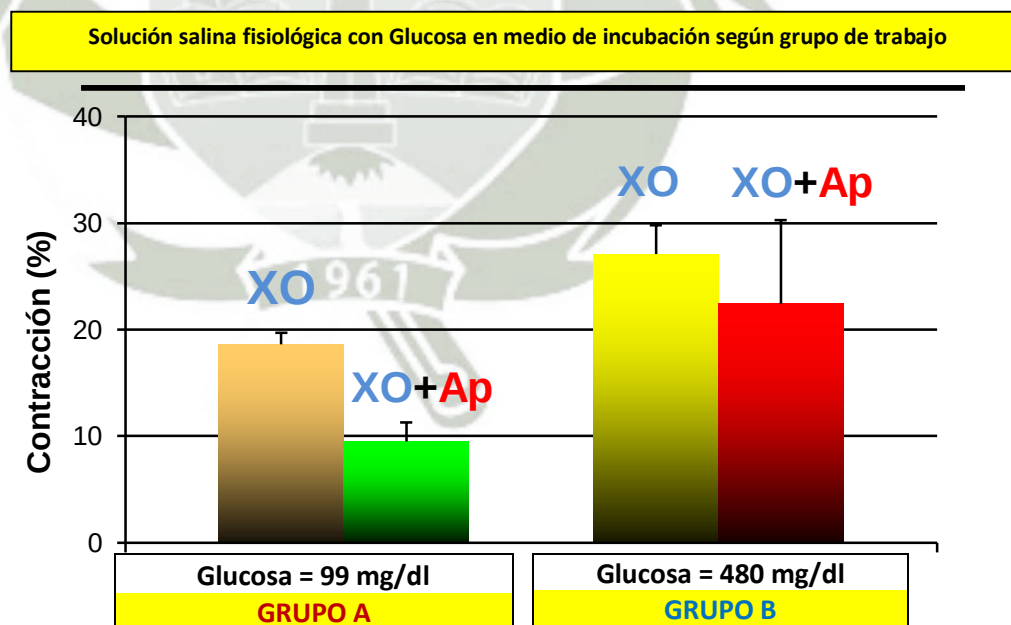
Los anillos del **grupo A** a diferencia del **grupo B**, al reaccionar frente a la L-arginina, producen una dilatación mayor de 99,4 ± 3,02% y 78,1 ± 5,6%, dichos valores representa una diferencia significativa de la máxima contracción sostenida 97,8% sin tratamiento de L-arginina, esto

según la prueba de t de student para una muestra $p=0,05$, motivo por el cual se consideró como respuesta vasodilatadora, siendo esta diferencia probablemente debido a que se está produciendo más óxido nítrico en la célula endotelial, por la presencia de su precursor.

Esta respuesta, nos estaría indicando que la vía del óxido nítrico se encuentra dañada, ya que al adicionar L-arginina al medio se esperaría que la dilatación producida sea mayor, motivo por el cual nos preguntamos si esta disminución se debería a algún sub-producto generado en el endotelio que sería el responsable de la disminución de la dilatación, por lo que se realizó el siguiente ensayo.

3.4. Determinación del efecto del incremento de radicales libres sobre la vasoconstricción de anillos aórticos y respuesta frente al Alopurinol (gráfico y tabla 4)

Gráfico 4, Efecto de la Xantino Oxidasa y el Alopurinol sobre los anillos de aorta torácica (Grupo de trabajo A y B)



LEYENDA: (XO) Xantino Oxidasa, (Ap) Alopurinol.

FUENTE: Imagen de elaboración propia.

Tabla 4, Reacción en porcentaje de los anillos torácicos frente a la Xantino Oxidasa y al Alopurinol (**Grupo de trabajo A y B**)

	Concentración de glucosa en solución salina fisiológica		Prueba t	
	GRUPO A	GRUPO B		
	99 mg/dl	480 mg/dl		
XO 0,1 u/ml X ± ES	18,6 ± 1,1	27,1 ± 2,7	P<0,05	s
XO + Ap X ± ES	9,5 ± 1,8	22,4 ± 7,9	P<0,05	s
n	5	5		

LEYENDA: (**XO**) Xantino Oxidasa, (**Ap**) Alopurinol, (± ES) Media de Error Estándar, (n) Tamaño de la muestra, (s) error significativo y (ns) porcentaje de error no significativo.

FUENTE: Tabla de elaboración propia.

El Gráfico y tabla 4, muestran la actividad vasoconstrictora de los anillos torácicos frente a la Xantino Oxidasa por la formación de radicales libres en el endotelio vascular de los anillos torácicos.

Así tenemos que el grupo A frente a la Xantino Oxidasa produce una menor respuesta de la actividad vasoconstrictora, mientras que el grupo B, presenta marcado de dicha actividad, esta respuesta nos puede indicar que se está formando especies reactivas de oxígeno, debido a la oxidación de la Hipoxantina, como se muestra en la reacción detallada a continuación:



Como se muestra en la reacción, la xantino oxisada es una enzima que cataliza la oxidación de la hipoxantino, generando finalmente ácido úrico y peróxido de hidrógeno (**potente radical libre**), que genera la respuesta vasoconstrictora aumenta de endotelio vascular.

Seguidamente a esta reacción, se adicionó a ambos grupos Alopurinol (*antioxidante*), cuya función no solo radica en inhibir en forma específica la acción de la Xantina Oxidasa, sino también de barrer con la formación de los radicales libres formados, teniendo como resultado la disminución de la contracción en mayor proporción en el grupo A que en el B, esto probablemente debido a que además de generarse radicales libres por efecto de la XO, también se estarían generando radicales libres por efecto de la glucosa, la cual no estaría siendo atacado por la XO, ya que dicha enzima actúa específicamente oxidando a las purinas.

Ahora bien en la tabla 4, muestra los promedios expresados en porcentaje de contracción, donde podremos observar que dicho resultado se obtuvo de cinco muestras.

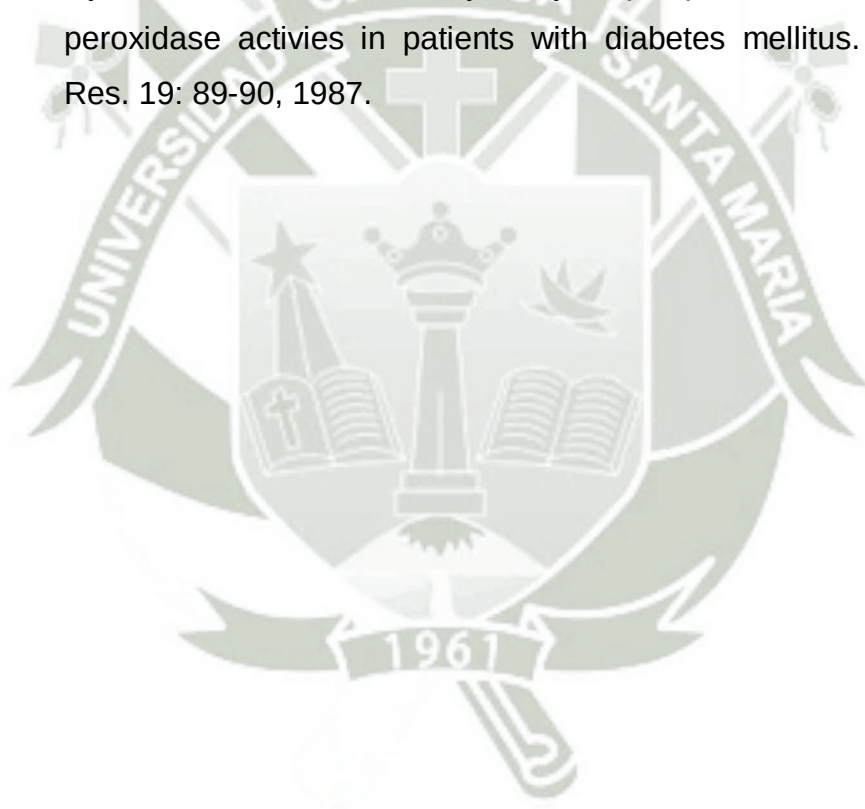
Así tenemos que el grupo A (*Grupo normoglicémico*), frente a la Xantino Oxidasa produce una contracción que alcanza como pico máximo el $18,6 \pm 1,1\%$ mientras que el grupo B (*Grupo hiperglicémico*), produce una respuesta vasoconstrictora mucho mayor que fue de $27,1\%$; lo que indica una diferencia significativa según la prueba de t de student para una muestra $p < 0.05$.

Luego se esta respuesta se trató a ambas muestras con Alopurinol, en donde las respuestas fueron las siguientes, el grupo A manifestó una contracción de $9,5 \pm 1,8\%$; mientras que el grupo B manifestó una contracción de $22,4 \pm 7,9\%$, lo que indica según la prueba de ANDEVA y prueba de Tukey que la respuesta de vasoconstricción sería igual a $p = 0,05$, que indicaría que la contracción producida por el Alopurinol en el grupo B, estaría produciendo un efecto significativo

Estos resultados están de acuerdo con reportes previos que señalan que los EROs inactivan a los factores relajantes del endotelio y selectivamente atenúan la relajación dependiente del endotelio como en

el trabajo realizado por Rubanyi, G:M, and P.M Vanhoutte: “ Oxygen-derived free radicals, endothelium, and responsiveness of vascular smooth muscle. Am. J. Physiol. 250 (Heart Circ. Physiol. 19): H815-H821, 1986.

Otros trabajos señalan que el incremento de radicales libre en células rojas, plasma y retina de animales diabéticos así como en humanos, se debe a la presencia de exceso de glucosa y recomiendan el uso de antioxidantes para contrarrestar el efecto del alto nivel de glucosa circulante; tal como lo manifestaron en su trabajo, Uzel, N. A. Sivas, M. Uysal, and H. Oz en; “ Erythrocyte lipid peroxidation and glutathione peroxidase activies in patients with diabetes mellitus. Horm. METUB. Res. 19: 89-90, 1987.



DISCUSIÓN

La diabetes mellitus es una enfermedad que durante su desarrollo se observa que los niveles elevados de glucosa in vitro, produce disminuye la relajación de los vasos sanguíneos al ser expuestos a la acción de la Acetilcolina, que actúa a nivel de los receptores muscarínicos alfa produciendo vasodilatación.

De la misma manera se ha demostrado en el presente trabajo, que la exposición a elevadas concentraciones de Glucosa, causan en forma selectiva la disminución de la relajación dependiente del endotelio, esto debido a que se ve afectada la producción de Óxido Nítrico en concentraciones apropiadas, tal como se muestra en el gráfico 2.

En consecuencia, podemos señalar que el anión superóxido producido a partir de peróxido de hidrógeno, sería el responsable de la disminución de la relajación dependiente del endotelio a elevadas concentraciones de glucosa. Varios estudios señalan que la presencia de radicales libres, estarían involucrados en la patogenia de la diabetes mellitus y que el uso de antioxidantes como la vitamina C, SOD, catalasa, glutatión, ácido ascórbico, son capaces de mejorar el cuadro diabético.

De otro lado este trabajo, según los resultados obtenidos señalan que los EROs (*sustancias que inactivan a los factores relajantes del endotelio*) producidos por la oxidación de la hipoxantina en presencia de la xantino oxidasa, provocarían vasoconstricción aumentada tras la presencia de elevados niveles de glucosa en el medio, el hecho de que Alopurinol inhiba las contracciones inducidas por la xantino oxidasa sugiere la participación de algún metabolito producto de la reacción.

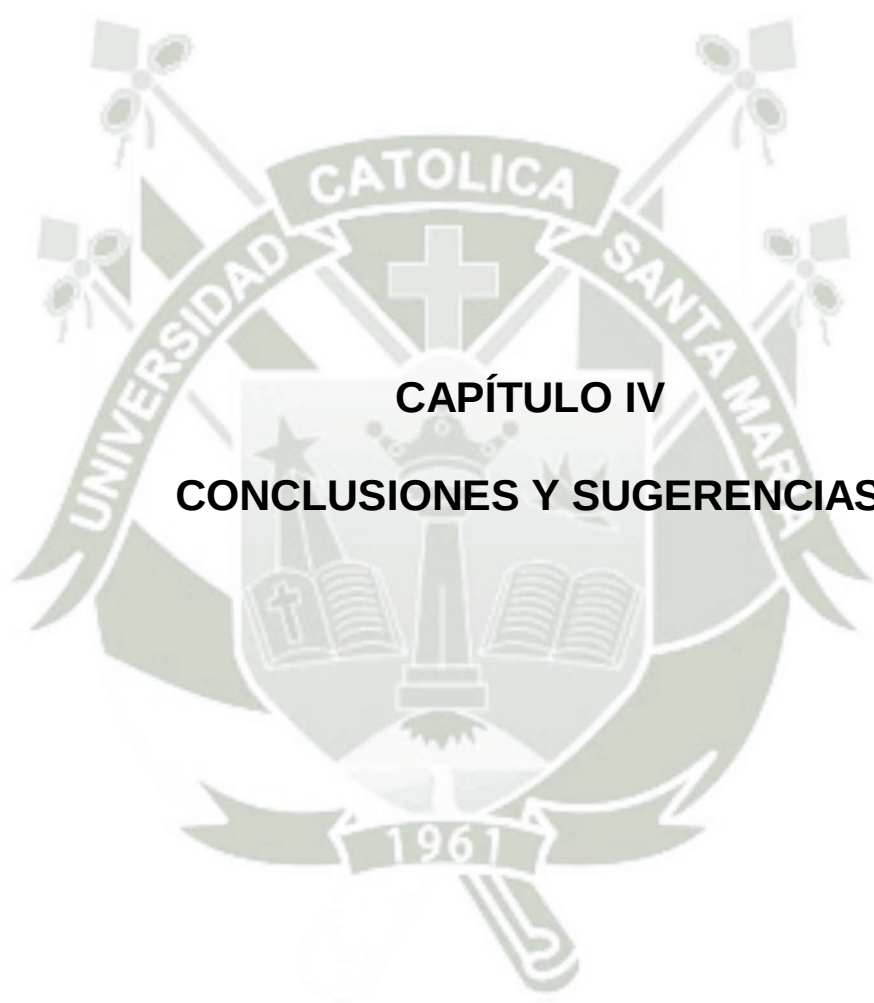
El aumento de la vasoconstricción debida a la producción del anión superóxido en la condición de glucemia elevada, podría significar una alteración de los mecanismos protectores presentes en la células endotelial que estarían

aumentando la susceptibilidad a la injuria oxidativa.

De otro lado, se sabe que la autooxidación de la glucosa produce radicales libres que podrían producir una contracción similar a la observada en el presente trabajo por la Xantina Oxidasa.

El uso de Alopurinol (**antioxidante**), se sabe que es un inhibidor específico de la Xantina Oxidasa y barredor de radicales libres al reaccionar con ambos grupos de trabajo previno el efecto de la exposición de los anillos aórticos a altos niveles de glucosa, el hecho que el Alopurinol inhiba las contracciones inducidas por la Xantina Oxidasa sugiere la participación de algún metabolito producto de la reacción en la contracción, además el incremento de la vasoconstricción debida al anión superóxido en la condición de glucosa elevada podría significar una alteración de los mecanismos protectores presentes en las célula que estarían incrementando la susceptibilidad a la injuria oxidativa.

Finalmente señalaremos que nuestros resultados sugieren que la generación de radicales libres durante la exposición a hiperglicemia aguda participan en la alteración de la capacidad vasoactiva del endotelio y que por tanto, el estrés oxidativo resultante puede ser la base por la cual la hiperglicemia induce las complicaciones vasculares conocidas que ocurren en la diabetes mellitus.



CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS

CONCLUSIONES

Por lo que se concluye que:

- **Primera:**

El efecto de la Noradrenalina, sobre los anillos no expuestos a glucosa o anillos normoglicémicos, determinó el 100% de la contracción fisiológica así como la Acetilcolina, determinó el grado de relajación normal, lo que fue medido por las oscilaciones dadas en el Polígrafo de Grass y según la prueba de ANDEVA que determinó que se está realizando en forma óptima la contracción y relajación esperada.

- **Segunda:**

Se observó que existe un incremento en la respuesta vasodilatadora a la Acetilcolina a dosis creciente, muestra una respuesta altamente significativa en el grupo hiperglicémico, lo que nos indicaría que probablemente el endotelio se encuentra dañado por los niveles elevados de glucosa.

- **Tercera:**

Se observa que la L-arginina no alteró en forma significativa la respuesta en los anillos aislados de aorta torácica expuestas a hiperglicemia aguda, lo que nos demuestra que la vía de la vasodilatación dependiente del endotelio está dañada, esto se basa en que la Acetilcolina, neurotransmisor que actúa a nivel de los receptores muscarínicos M_3 de los vasos sanguíneos, causa un aumento en la síntesis de óxido nítrico, que es producido en las células endoteliales y de allí se difunde a las células de la musculatura lisa vascular adyacente causando su relajamiento y vasodilatación consecuente, la que al reaccionar frente a la L-arginina exógena debería producir mayor cantidad de NO.

En efecto, se ha demostrado en otros estudios como el realizado por Furchgott en 1980, donde demostró que al estimular el receptor M_3 del músculo liso de los vasos sanguíneos en estados patológicos, como en la diabetes mellitus, no se produce vasodilatación debido a que este efecto se encuentra dañado debido a la disminución de la Vía de producción del óxido nítrico.

- **Cuarta:**

El efecto vasoconstrictor inducido por el incremento de los radicales libres, producida por la Xantina Oxidasa frente a la Hipoxantina, fue bloqueada por la incubación en Alopurinol, señalando que el empleo de antioxidantes recupera la función vasodilatadora. Esto debido a que el Alopurinol actúa inhibiendo no sólo la acción de la xantino oxidasa, sino también inhibe la síntesis de radicales libres generados producto de la reacción y de la autooxidación de la glucosa.

Finalmente se dirá que según nuestros datos obtenidos en el presente trabajo de investigación se tiene que el incremento de los niveles de glucosa, administrado en forma exógena puede ser la causante de una disfunción endotelial, ya que la actividad vasoactiva del endotelio vascular se deterioró, esto tomando en consideración que en el grupo que no fue sometido a concentraciones elevadas de glucosa la respuesta vasoactiva no fue alterada.

APORTES DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

- ❑ Un estado de hiperglicemia agudo entonces, puede desencadenar una disfunción endotelial, que se caracteriza por ser silenciosa, por lo que es necesario realizar un control del estado del endotelio vascular una vez diagnostica la diabetes mellitus, con la finalidad de prevenir la formación de ateromas en las arterias que finalmente desencadenarían un infarto cardiaco.
- ❑ Además por el trabajo realizado se ha demostrado que la disfunción endotelial es producida por un permanente estado de estrés oxidativo, generado por la producción excesiva de radicales libres en el cuerpo. motivo por el cual se debe controlar esta producción con el uso de antioxidantes que ayuden a disminuir la producción de estos y conseguir el equilibrio adecuado.



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Centro Mexicano de la Diabetes. “Vida Antecedentes Históricos de la Diabetes” Recuperado en línea de:
<https://www.diabetesvida.com.mx>. Actualizado 2009
2. Sindicato Médico Uruguayo. “Historia de la Diabetes”. Recuperado en línea de:
<https://www.smu.org.uy>. Actualizado el 2013.
3. Instituto Químico Biológico. “Historia de la Diabetes”. Recuperado en línea de:
<https://www.igs.es/d-mellitus/historia/historia.01htm>. Actualizado 2013.
4. International Diabetes Federation. “¿Qué es la Diabetes?”. Recuperado en línea de: IDF Diabetes ATLAS-Sexta Edición 2014.
<https://www.idf.org/diabetes/se/es/que-es-la-diabetes/?languaje.es>.
5. Wikipedia La Enciclopedia Libre. “Diabetes Mellitus”. Recuperado en Línea de:
<https://es.wikipedia.org/wiki/diabetes-mellitus>. Actualizado el 2011.
7. Medline Plus Enciclopedia Médica. Biblioteca Nacional Médica de los E.E.U.U. “Diabetes”. Recuperado en línea de:
<https://www.nlm.nih.gov/medlinesplus/spanish/ency/article/001212.htm>.
Editorial Team-2013.
8. Servicio de Diabetología del Hospital de Córdoba. ¿Qué es la Diabetes Mellitus?. Recuperado en línea de:
<https://www.diabeteshospitalcordova.com/pacientes/que-es-ladiabetes>.
Actualizado el 2012.
9. American Diabetes Association. “Diabetes tipo 1”. Recuperado en línea de:
<https://www.diabetes.org>español>informacióninformaciónbásicadediabetes>. Actualizado 2014.

10. Medline en Español – Biblioteca Nacional de Medicina Humana de los E: E. U. U. Recuperado en línea de:
<https://www.nlm.nih.gov/medlinesplus/spanish/ency/article000313.htm>.
Actualizado el 2014.
11. University of Maryland Medical Center. “Diabetes tipo 2”. Recuperado en línea de:
<https://www.umm.edu/health/medical/spanish/ency/article/diabetes-tipo-2>
Actualizado el 2011.
12. Medline Plus. Biblioteca Nacional de Medicina Humana de los E. E. U. U. Recuperado en línea de: . Editorial TEAM.
<https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article000896.htm>.
Actualizado el 2014.
13. Berenice Recendic. Bienestar y Salud. “¿Cuáles son los Niveles óptimos de Glucosa”. Recuperado en línea de:
<https://www.diabetesbienestarsalud.com/2013/02/cuales-so-los-niveles-optimos-de-glucosa>. Actualizado el 2013.
14. Wikipedia La Enciclopedia Libre. “Insulina”. Recuperado en línea de :
<https://es.wikipedia.org/wiki/insulina>. Actualizado el 2011.
15. News Medical. “Síntesis de la Insulina”. Recuperado en línea de:
<https://www.news-medical.net/health/insulina-syntesis-spanish.aspx>.
Actualizado el 2012.
16. Facultad de Ciencias en la Nutrición y Diabetes de la UNED. “Guía de Alimentación y Salud Alimentaria en las Enfermedades de la Diabetes Mellitus” Recuperado en línea de:

<https://www.uned.es-y-dieteticauia/enfermedades/diabetes/manual-produccion-de-ins.htm>. Actualizado el 2014.

17.Dra. Guiselle Duran Barredo. Slideshare. “Glucogénesis y Glucogenólisis”. Recuperado en línea de:

<https://es.slideshare.net/quiss8/glucogenesis-y-glucogenolisis>.

18.Dr. Roger LópezHurquiso. Slideshare. “Glucogénesis”. Recuperado en línea de: <https://es.slideshare.net/quiss9/glucogenesis>. Actualizado el 2012.

19.Dr. Oscar Enrique Morales Moguel. Slideshare. “Glucólisis”. Recuperado en línea de: <https://es.slideshare.net/quiss14/glucolisis>. Actualizado el 2014.

20.Dra. Leticia Vittone Ruíz y Dra. Cecilia MundnaWeilenmann. Federación Argentina de Cardiología. “Endotelio Vascular e Hipertensión Arterial-PDF” Recuperado en línea de:

<https://www.fac.org.ar/1/publicaciones/libros/trafac/hta-01/endotelio2pdf>.

Actualizado el 2010.

21.Dr. César García Carrillo. Monografias.com. “Disfunción Endotelial” Recuperado en línea de:

<https://www.monografias.com/trabajo10/disfend.shtml>. Actualizado el

2010.

22.Dra. María Amaya Alexander de Artimaño y Dra. Ana Isabel Ortego Amateo. “Función y Disfunción Endotelial” Editorial Complutense Primera Edición. España 2010. Recuperado en línea de:

<https://www.boooks.google.com.pe/boooks?isbn=8489784981>. Publicado

el 2010.

23. Dr. Mario Ornelas Arrieta Servicio de Cardiología Nuclear. Slideshare. “Disfunción Endotelial Marcadores de Aterosclerosis - Conferencia Científica Anual sobre Síndrome Metabólico” Recuperado en línea de: <https://es.slideshare.net/.../disfuncion-endotelial-marcadores-de-arteroesclerosis>. Publicado el 2009.
24. Dr. Waldo Fernandez Durán. Slideshare. “Endotelio Vascular”. Recuperado en línea de: <https://es.slideshare.net/willacumu/endotelio?next-slideshow=2>. Publicado el 2010.
25. Dr. Luis Ordoñez Salas. Slideshare. “Fisiología del Endotelio Vascular- Universidad Salvadoreña – Alberto Maferri” Recuperado en línea de: https://es.slideshare.net/luis_ordoñez. Publicado el 2013
26. Dra. Roxana Urquiso Hurtado. Slideshare. “Endotelio Vascular”. Recuperado en línea de: <https://es.slideshare.net/edupomar/endotelio-vascular?next-slideshow=4>. Publicalizado el 2010.
27. Dr. Monserrate Ortega Lara. Slideshare. “Disfunción Endotelial”. Recuperado en línea de: <https://es.slideshare.net/shaddydott/disfuncion-endotelial?next-slideshow=1>. Publicado el 2011.
28. Dra. Edgar Manrique Alva. Universidad Científica del Sur. Facultad de Medicina Humana Morfología II. “Endotelio Vascular”. Recuperado en línea de: <https://www.universidad.cientifica.del.sur.ar>. Publicado el 2013.
29. Dra. Ely Mosquera Ortega. Slideshare. “Acción del Endotelio Vascular”. Recuperado en línea de: <https://es.slideshare.net/elymosqueraortega/accin-del-endotelio?related=1>. Publicado el 2011.

- 30.Dr. Eddy Velásquez Cárdenas. Slideshare. “El Endotelio y su Fisiopatología” Recuperado en línea de:
<https://es.slideshare.net/eddynoy/Endotelio-fisiopatologia-ok?next-slideshow=1>. Publicado el 2014
- 31.Dra. Yenny Saavedra Alarcón. Monografías.com. “Acciones del Óxido Nítrico” Recuperado en línea de:
<https://www.monografias.com/trabajo16/oxidonitrico/oxidonitrico.shtml>. Publicado el 2011.
- 32.Dr. David Muñoz Arce. YouTube. “Su Endotelio y la Diabetes Mellitus”. Recuperado en línea de:
<https://www.youtube.com/watch?v=9LFWvFwOrNg>. Publicado el 2012.
- 33.Arturo Goycochea Romero. CITEC-B. YouTube. “Disfunción Endotelial- Introducción”. Recuperado en línea de:
<https://www.youtube.com/watch?v=05aoey9e4c4>. Publicado el 2014.
- 34.Arturo Goycochea Romero. CITEC-B. YouTube. “Disfunción Endotelial – 2”. Recuperado en línea de:
<https://www.youtube.com/watch?v=oDicYxLtcWl>. Publicado el 2014.
- 35.Arturo Goycochea Romero. CITEC-B. YouTube. “Disfunción Endotelial - 3”. Recuperado en línea de:
https://www.youtube.com/watch?v=_gl-AFzVic8. Publicado el 2014.
- 36.Walter Ramos Saavedra. YouTube – Discovery Channel “El oxígeno y los Radicales Libres”. Recuperado en línea de:
<https://www.youtube.com/watch?v=CJRPAD2H9k9>. Publicado el 2014.
- 37.Luis Alarcón Valdés. YouTube. “Qué es el Estrés Oxidativo”.

Recuperado en línea de:

<https://www.youtube.com/watch?v=9LFWvFWorNg>. Publicado el 2012.

38. Wikipedia La Enciclopedia Libre. “Estrés Oxidativo”. Recuperado en línea de: https://es.wikipedia.org/wiki/estres_oxidativo. Actualizado el 2011.

39. Dr. Jeddu Cruz Hernández. Medigraphic.com. “Estrés Oxidativo”. Recuperado en línea de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2011/111b.pdf>. Publicado el 2011.

40. Universidad de Cantabria. Daño Oxidativo y el Envejecimiento. “Qué son los Radicales Libres”. Recuperado en línea de: <https://www.ocw.unican.es>. Publicado el 2011.

41. Wikipedia La Enciclopedia Libre. “Radicales (química)”. Recuperado en línea de: <https://es.wikipedia.org/wiki/radical-quimica>. Actualizado el 2009.

42. Rafael Pantoja. Discovery Channel. YouTube. “El oxígeno y los Radicales Libres”. Recuperado en línea de: <https://www.youtube.com/watch?v=CJrPADuH9Kg>. Publicado el 2013.

43. Dr. Luis FernandezAngel. Youtube. “Qué es el Glutati6n”. Recuperado en línea de: <https://www.youtube.com/watch?v=VPCF0F9uAlw>. Publicado el 2013.

44. Dra. Karla Martinez Pinto. Slideshare. “Estrés Oxidativo”. Recuperado en línea de: <https://es.slideshare.net/karlaisabelmartinezpinto/estres-oxidativo-43893840>. Publicado en Enero del 2015.

45. Dr. Alberto Bonesis, Dra. Lidia Carta y Dra. Virginia Cárdenas Junquesia. Ciencia e Investigación. “Envejecimiento Mitocondrial”. Recuperado en línea de:
<https://sisbib.unms.edu.pen1/envejecimiento.htm>. Publicado el 2000.
46. Dra. Hayde Ortiz Rubeola. Slideshare. “Radicales Libres”. Recuperado en línea de:
<https://es.slideshare.net/haydeortiz/radicales-libres>. Publicado el 2013.
47. Alimentos y Salud en el Mundo de Habla Hispana. Antioxidantes Definición, Clasificación y Conceptos Generales” Recuperado en línea de: <https://www.portalantioxidantes.com/antioxidantes>. Publicado el 2012.
48. Wikipedia La Enciclopedia Libre. “Especies Reactivas de Nitrógeno”. Recuperado en línea de: <https://es.wikipedia.org/wiki/especies-reactivas-del-nitrogeno>. Actualizado en 1999.
49. Dr. Raúl Zaavedra Talavera. “Especies Reactivas del Nitrógeno”. Recuperado en línea de:
<https://docseetools.com/articulos-de-todos-los-temas/article-36688.html>. Publicado el 2012.
50. Artículos de Anestesiología Médica. “Especies Reactivas del Nitrógeno”. Recuperado en línea de:
<https://files.sld.cu/anestesiologia/files/2011/01/para.editorial/-ros.pdf>. Publicado el 2011.
51. Dr. Augusto Muñoz Talavera. Medicina, Nutrición y Análisis Ortomolecular – Barcelona. Title Medicina Orto Barcelona. “Antioxidante Endógenos y Exógenos”. Recuperado en línea de:
<https://ortobarcelona.com/antioxidantes-endogenos-y-exogenos.html>.

Publicado el 2013.

52. Dra. Esmeralda Días Aroca. Slideshare. "Antioxidantes Endógenos". Recuperado en línea de:
<https://es.slideshare.net/dunazul/los-antioxidantes-exogenos>. Publicado el 2009.

53. Clínica Quiroz. Slideshare. "Antioxidantes". Recuperado en línea de:
<https://es.slideshare.net/clinicaquiroz/antioxidante>. Publicado el 2013.

54. Wikipedia La Enciclopedia Libre. "Glutation". Recuperado en línea de:
<https://es.wikipedia.org/wiki/glutation>. Actualizado el 2008.

55. Dr. Guillermo Pérez Aranibar. Coenzima.com. "Glutation". Recuperado en línea de: <https://www.coenzima.com/glutation>. Publicado el 2010.

56. Hornig B, Arakawa N, Kohler C, Drexler H. Vitamin E improves endothelial function of conduit arteries in patients with chronic heart failure. Circulation. 1998 ;97:363-368.

57. Ting HH, Timimi FK, Haley EA, Roddy MA, Ganz P, Creager MA. Vitamin E improves endothelium-dependent vasodilation in forearm resistance vessels of humans with hypercholesterolemia. Circulation. 1997;95:2617-2622.

58. Cockcroft JR, Chowieńczyk PJ, Benjamin N, Ritter JM. Preserved endothelium-dependent vasodilation in patients with essential hypertension. N Engl J Med. 1994;330:1036-1040.

59. Gokce N, Keaney JF Jr, Vita JA. Endotheliopathies: clinical manifestations of endothelial dysfunction. In: Loscalzo J, Shafer AI, eds. Thrombosis and Hemorrhage. Baltimore, Md: Williams and Wilkins: 1998:901-924.

60. Rajagopalan S, Kurz S, Munzel T, Tarpey M, Freeman BA, Griending KK, Harrison DG. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. *J Clin Invest*. 1996;97:1916-1923.
61. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Magagna A, Salvetti A. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation by restoring nitric oxide activity in essential hypertension. *Circulation*. 1998; 97:2222-2229.
62. Hypertension. Detection and Follow-up Program Cooperative Group. The Hypertension Detection and Follow-up Program: a progress report. *Circ Res* 1977;4(suppl 1):106-9
63. Guyton AC. Renal function curve: a key to understanding the pathogenesis of hypertension. *Hypertension* 1987;10:1.
64. Resumen de las Normativas del Primer Grupo de Consenso en Prevención Cardiovascular. *RevFedArgCardiol* 1999; 28: 399 - 414.
65. García JC, Clapés S, Céspedes EM, Simplicio O, Morín MA. Radicales libres sueños moleculares o realidades clínicas. *Rev Cubana InvestBiomed* 1994;13(1-2):12-8.
66. Guyton, Arthur C. Tratado de Fisiología Médica; México Edit. Interamericana, 2001, 10ma. Edic. Tomo I.
67. Zalba G, Beaumont FJ, San José G, Fortuño A, Fortuño MA, Díez J. Is the imbalance between nitric oxide and superoxide altered in spontaneously hypertensive rats. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16(S1): 2- 5.

68. Cevallos César. “Hipertensión volumen dependiente como resultado de la supresión de propanolol en ratas” Tesis de Maestría en Ciencias Biomédicas, 2004

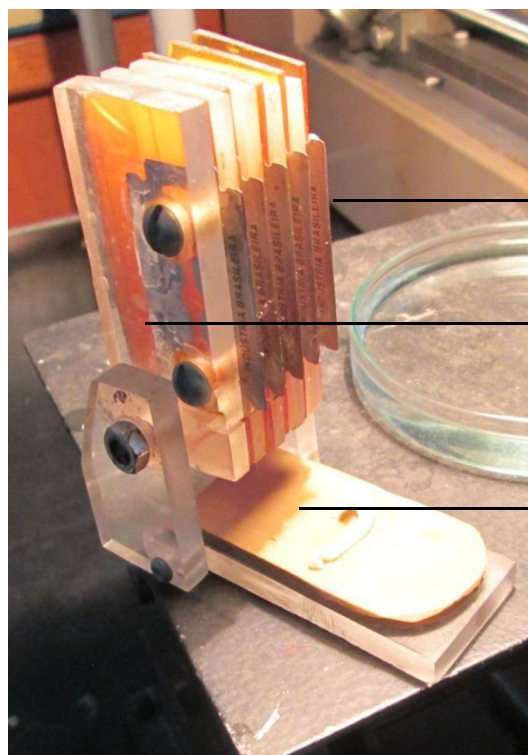




ANEXOS

Fotografías del trabajo realizado

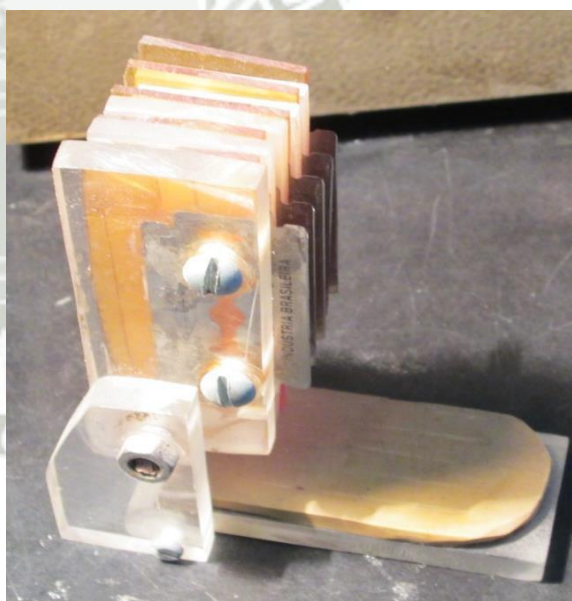
ANEXO 1: GUILLOTINA VISTA FRONTAL Y LATERAL



Cuchillas reguladas a 2.4 mm.

Base de apoyo para cortes.

Base para muestras.

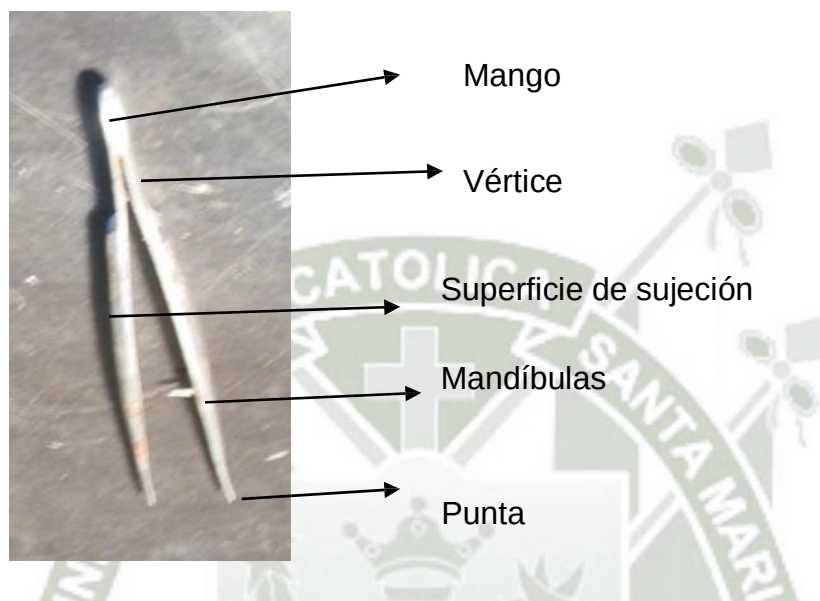


Regulada para cortes de 5 mm.

Imagen: Tomada de laboratorio de CIDEC-UNSA

ANEXO 2: MATERIALES DE DISECCIÓN

PINZAS DE DISECCIÓN



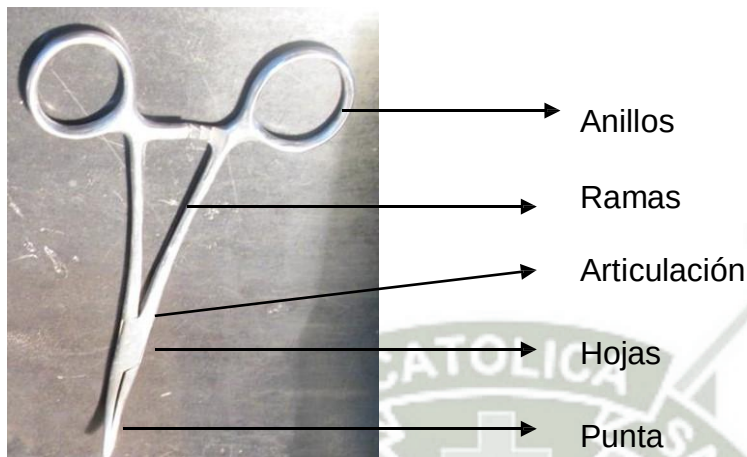
Tipos de pinza según su mordida.

(Estriado Transversal y Estriado Longitudinal)

Imagen: Tomada de laboratorio de CIDECS-UNSA

ANEXO 3: MATERIAL DE DISECCIÓN

TIJERAS DE DISECCIÓN

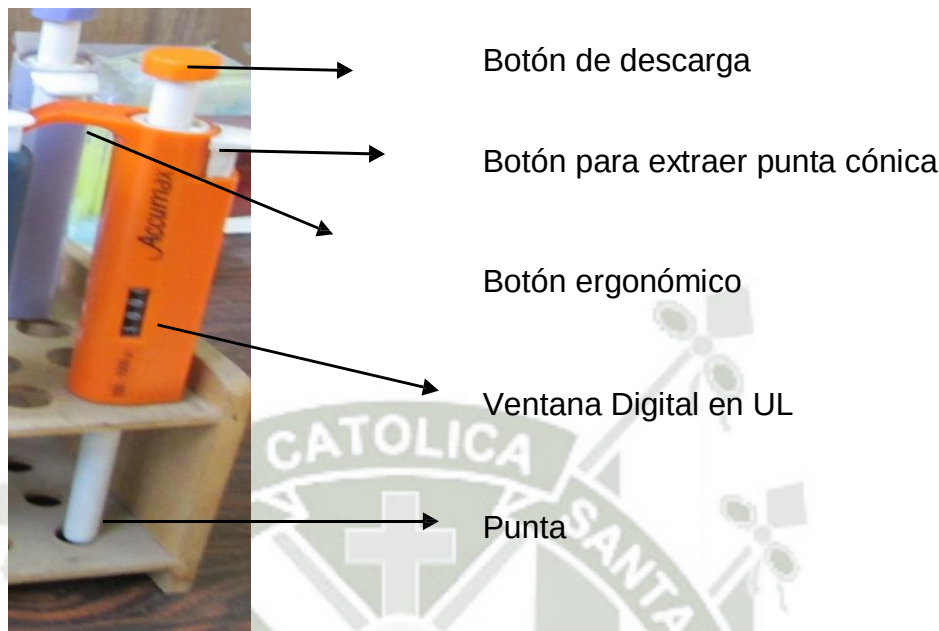


Tipos de tijera fórceps con y sin cremallera.

(Tijera de Metzembaum curva y recta de 180 y 240 mm)

Imagen: Tomada de laboratorio de CIDEK-UNSA

ANEXO 4: MICROPIPETETAS UTILIZADAS



Tipos de micropipetas según medidas requeridas en UL.

Imagen: Tomada de laboratorio de CIDEK-UNSA

ANEXO 5: EQUIPO PARA MEZCLA DE OXÍGENO



Balón de Oxígeno para la mezcla de gases

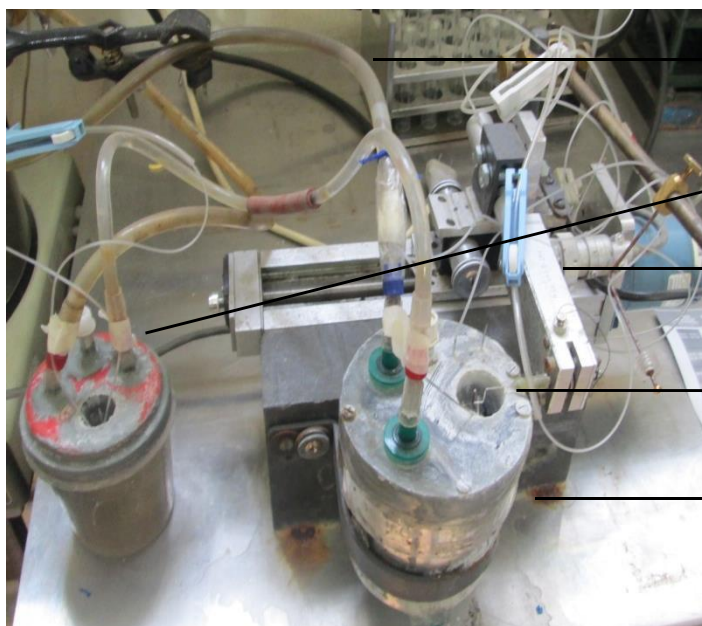
Balón de Dióxido de Carbono para la mezcla de gases.



Balones de Oxígeno y Dióxido de Carbono.

Imagen: Tomada de laboratorio de CIDECS-UNSA

ANEXO 6: CÁMARA DE ÓRGANOS



→ Ingreso de mezcla de gases.

→ Ingreso de agua a 37°C

→ Transductor de tensión
isométrica

→ Postes de acero Inoxidable

→ Pozo de cámara de órganos



Equipo de trabajo de Cámara de Órganos.

Imagen: Tomada de laboratorio de CIDECS-UNSA

ANEXO 7: TANQUE REGULADOR DE TEMPERATURA



Termostato

Interruptor de prendido y apagado

Ingreso de mezcla de gases

Imagen: Tomada de laboratorio de CIDECS-UNSA

ANEXO 8: POLÍGRAFO DE GRASS



Polígrafo de Grass Modelo 79, con 10 canales para el registro de parámetros fisiológicos y su modificación por acción de drogas u otros procedimientos.

Imagen: Tomada de laboratorio de CIDECS-UNSA

ANEXO 9: ESTABILIZADOR DEL POLIGRAFO DE GRASS

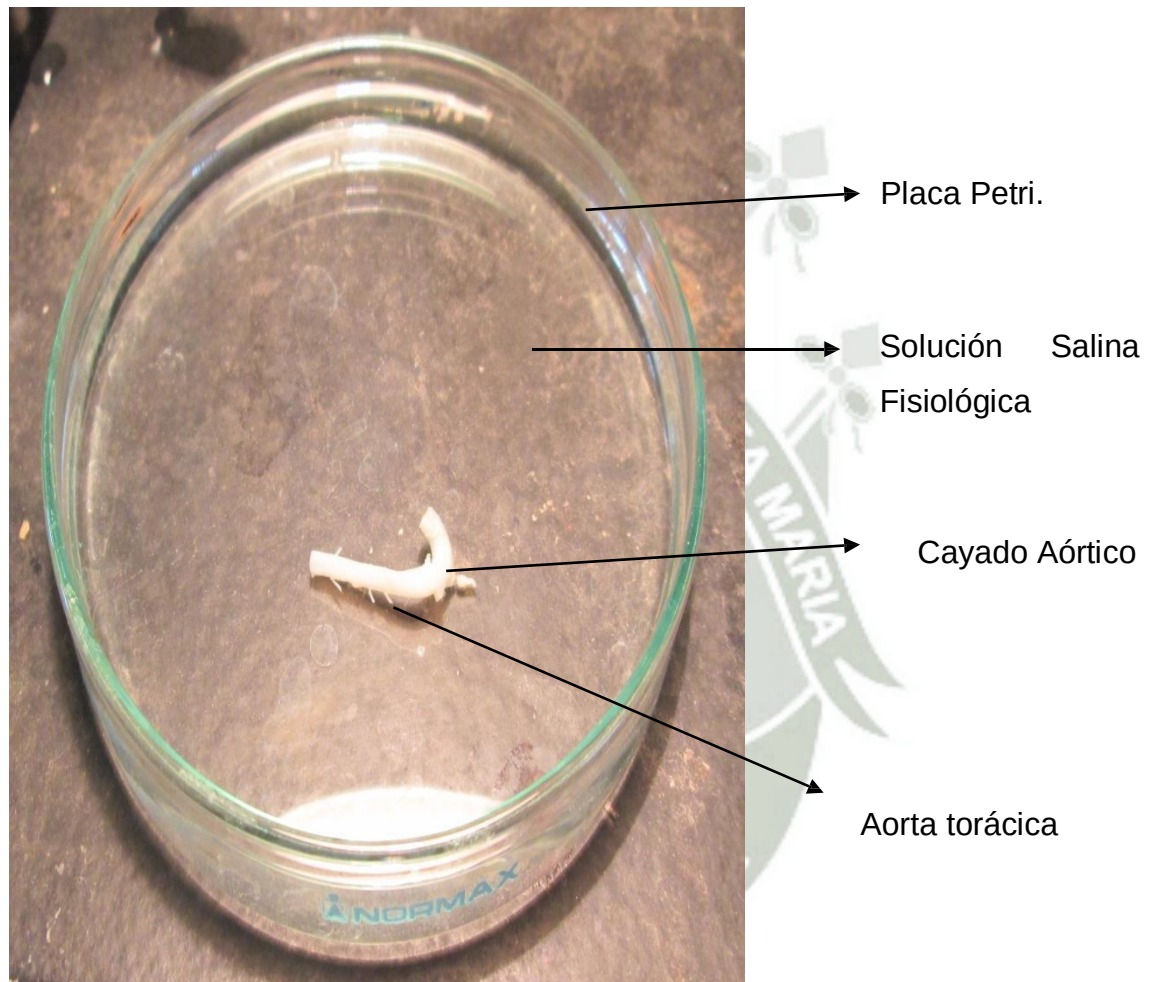


Estabilizador de frecuencia.

Corta picos o Estabilizador.

Imagen: Tomada de laboratorio de CIDEK-UNSA

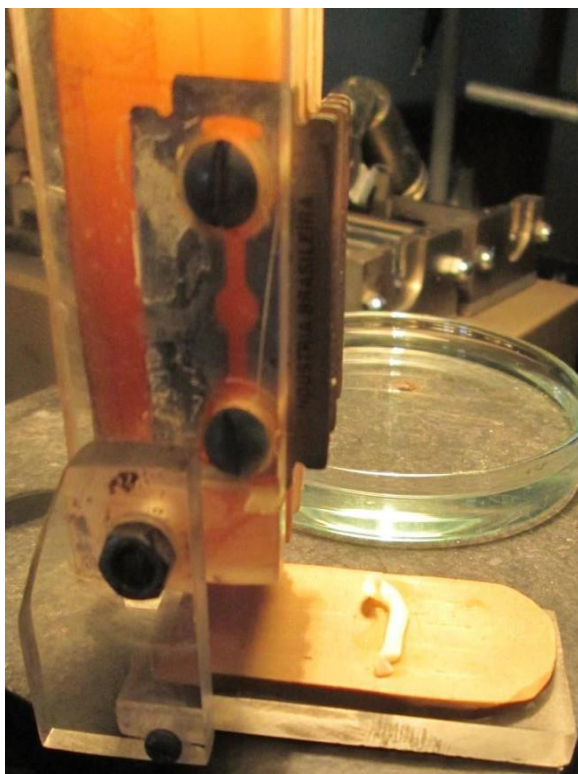
ANEXO 10: AORTA TORÁCICA RECIÉN SECCIONADA EN SSF



Aorta torácica limpia en medio de SSF.

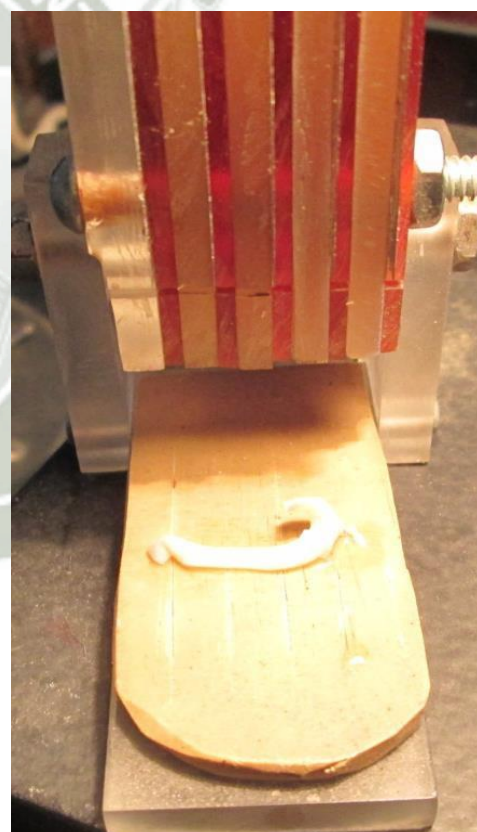
Imagen: Tomada de laboratorio de CIDECS-UNSA

Anexo 11: CORTE CON LA GUILLOTINA DE LA MUESTRA



Vista Lateral.

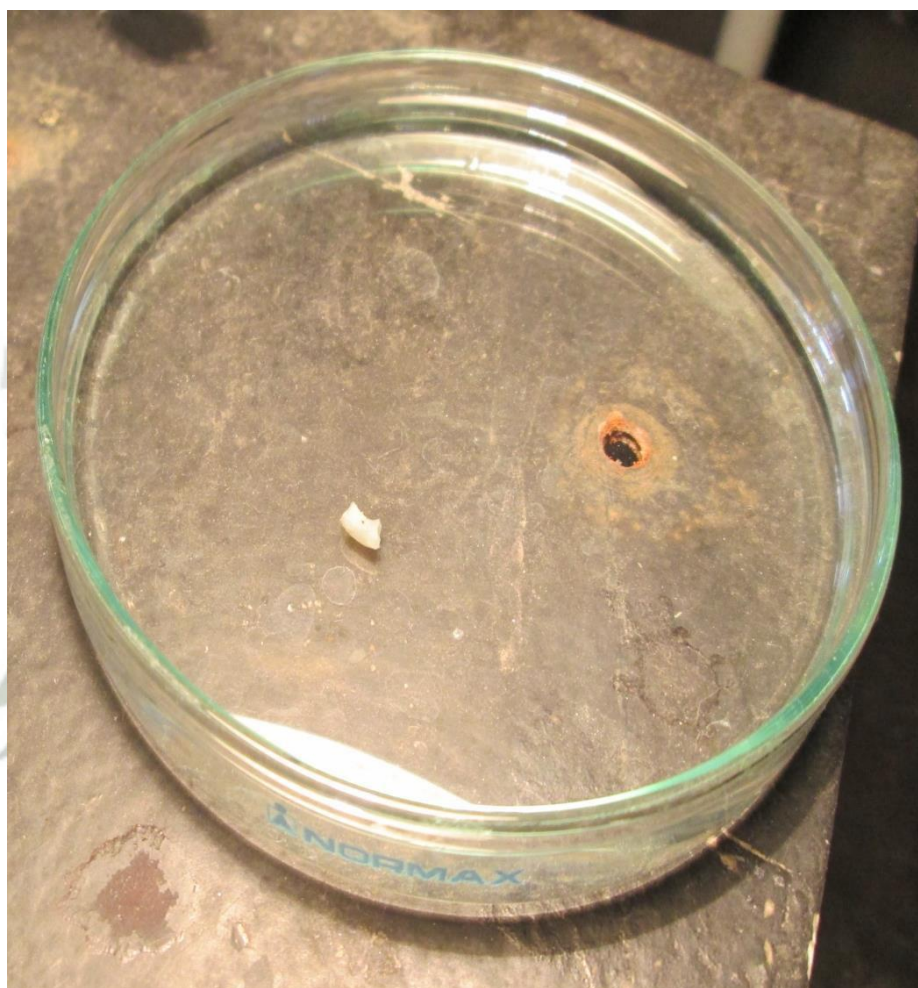
Vista Frontal



Corte de la Aorta con la guillotina regulada a 5 mm.

Imagen: Tomada de laboratorio de CIDEC-UNSA

ANEXO 12: AORTA TORÁCICA CORTADA A 5MM.



Aorta torácica cortada a 5 mm en medio de SSF.

Imagen: Tomada de laboratorio de CIDECS-UNSA

ANEXO 13: COLOCACIÓN DE LA AORTA EN CÁMARA DE ÓRGANOS



Previo a la colocación de los anillos en cámara de órganos

Colocando la muestra en la cámara de órganos.



Imagen: Tomada de laboratorio de CIDECS-UNSA

ANEXO 14: COLOCACIÓN DE DROGAS



Imagen: Tomada de laboratorio de CIDECS-UNSA